Dott. ALBERTO MICHELAZZI

RICERCHE ISTOLOGICHE E SPERIMENTALI

SULLA DISTRUZIONE E RIGENERAZIONE DEL PARENCHIMA SPLENICO

nelle malattie d'infezione

ROMA
Società Editrice Dante Alighieri
1900

Dott. ALBERTO MICHELAZZI

RICERCHE ISTOLOGICHE E SPERIMENTALI

SULLA DISTRUZIONE E RIGENERAZIONE DEL PARENCHIMA SPLENICO

nelle malattie d'infezione

ROMA
Società Editrice Dante Alighieri
1900

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa
diretto dal Prof. A. MAFFUCCI

Ricerche istologiche e sperimentali sulla distruzione e rigenerazione del parenchima splenico nelle malattie d'infezione

per il Dott. ALBERTO MICHELAZZI, Aiuto.

In precedenti ricerche mi sono occupato della funzione che la milza esercita nelle infezioni. Continuando a lavorare su quest'organo, mi è sembrato che in questo campo, per quanto largamente sfruttato, potesse trovare esplicazione quasi completamente nuova lo studio di un fatto che ad ogni istante la clinica ci fa osservare. La milza è uno degli organi che più direttamente risente di una infezione penetrata nell'organismo. La patogenesi e il significato del tumore di milza, lungamente studiato e discusso, e di cui in un precedente lavoro ho avuto luogo di occuparmi, sembra, nello stato attuale delle nostre cognizioni scientifiche sull'argomento, abbastanza esattamente definito. Lo studio di un fatto che ad ogni istante si verifica semeiologicamente nel corso di una malattia infettiva, è stato fino ad oggi lasciato quasi completamente da parte dalla patologia sperimentale.

Noi vediamo infatti un imponente tumore di milza verificatosi nel corso di una infezione, gradatamente ridursi collo scomparire dell'infezione stessa; così avviene di un tumore di milza da malaria, da tifo, ecc., e possiam dire che ciò avvenga in tutte quelle infezioni in cui si verifica un tumore di milza, le quali volgono a guarigione.

La clinica e la patologia sperimentale poco sino ad oggi si sono occupate del modo col quale si riduce un tumore di milza, e come il parenchima splenico possa, dopo una grave infezione, ritornare allo stato normale.

Il reperto istologico di milze fortemente tumefatte per una infezione, ha dimostrato e fatti congestivi alcune volte, e fatti iperplastici altre, ed altre volte ancora necrosi più o meno circoscritte del parenchima splenico.

In altri casi di infezioni gravi, di poi guarite, ed in cui semeiologicamente si è potuto dimostrare forte tumore di milza è lecito indurre che nel parenchima splenico sieno avvenute le stesse gravi alterazioni, da noi riscontrate al tavolo anatomico, e al microscopio, in casi di infezioni seguite da morte.

Eppure la milza, caduta completamente l'infezione, si riduce di volume, e ritorna al suo stato normale. E che ad esempio dopo un'infezione tifosa guarita

la milza ritorni al suo stato primiero, lo dimostrano i numerosi esami istologici che si sono eseguiti su milze di individui che una volta soffrirono l'infezione tifosa, e che molto tempo dopo son morti poi di altra malattia. In tali milze, ben di rado si possono riscontrare lesioni che accennino alla pregressa infezione tifica.

Possiamo in generale dire che pochi sono quegli individui che vengono al tavolo anatomico, e che nella lor vita, per un'infezione anche leggiera, non abbiano avuto un leggiero tumore splenico, il più delle volte passato inosservato. Non per questo noi riscontriamo in tali milze, di cui ci è dato poter fare il reperto istologico, alterazioni che stieno in rapporto colle lesioni che una volta in quest'organo si stabilirono. Segno evidente che un processo di rigenerazione di elementi già alterati o addirittura mortificati, si svolge in quest'organo, per ritornare al suo stato fisiologico. Come in quest'organo in cui un'infezione provoca alterazioni più o meno gravi, che variano nei limiti i più ampi, dalla semplice iperemia venosa, fino a necrosi più o meno ampie del perenchima splenico, può aversi il completo rinnovellamento del tessuto? Come avvenga la rigenerazione del parenchima epatico in seguito ad epatiti parenchimali, come la rigenerazione dell'epitelio renale in seguito a nefriti, come la rigenerazione di una glandula linfatica in seguito a processi infiammatori, è stato largamente studiato e dimostrato.

Il meccanismo di questa *restitutio ad integrum* della milza dopo un'infezione, mi sono proposto di studiare con questa serie di ricerche istologiche e sperimentali.

ESPOSIZIONE STORICA INTORNO ALLA RIGENERAZIONE, TUMORE, FAGOCITISMO ED EMBRIOGENESI DELLA MILZA.

Rigenerazioni in genere. — Le rigenerazioni in genere, debbono essere distinte in patologiche, cioè consecutive a lesioni che si sono stabilite in un punto qualunque del nostro organismo, ed in fisiologiche. Le rigenerazioni fisiologiche comprendono tutta quella serie di fenomeni di rinnovellamento cellulare che costituiscono l'essenza stessa della vita. Tali fenomeni di rigenerazione fisiologica furono largamente studiati in tutta la serie zoologica, e nei protozoari i fenomeni di rigenerazione traumatica sono stati oggetto di lunghissime esperienze di merotomia. Lo studio della rigenerazione degli organi e tessuti si è esteso su vasta scala zoologica, e dai protozoari, come abbiamo detto, si è passati agli echinodermi, ai lombricoidi, ai molluschi, sino ai vertebrati in genere. Se noi seguiamo questo lunghissimo studio sulla rigenerazione, noi vediamo che questa avviene tanto più semplicemente e perfettamente, quanto più l'animale è giovane. Con quale meccanismo si opera tale rigenerazione? Da molti ricercatori è stata studiata la rigenerazione in certi vermi, e si è riconosciuto che tale rigenerazione si opera mediante un completo ritorno dell'organo o tessuto allo stato embrionale. Nei vertebrati si è dimostrato che i fenomeni di rigenerazione che avvengono nel sistema nervoso, nei nervi periferici, nel fegato, nel sistema osseo sono fenomeni che hanno diretta attinenza col meccanismo di formazione che si verifica nella vita embrionale. Tale rigenerazione con caratteri embrionali, avviene ancora nella milza dopo un'infezione?

Rigenerazione della milza. — La letteratura sulla rigenerazione del paren-

chima splenico non è molto vasta. La maggior parte dei ricercatori hanno studiato la rigenerazione della milza in seguito ad ablazioni più o meno estese di quest'organo, ed hanno quindi studiato il fatto più dal lato fisiologico che da quello patologico.

Per passare brevemente in rivista la non molto abbondante letteratura che esiste sull'argomento, farò qui menzione dei principali lavori, ai quali, e per la importanza loro, e per l'autorità degli sperimentatori, sembrami utile rapidamente accennare.

La rigenerazione della milza fu per il primo osservata da ZAMBECCARI, il quale, nel mesentere di un cane splenectomizzato, osservò diverse neoformazioni, di differente volume, simili a ganglii linfatici.

La riproduzione della milza dopo la sua estirpazione, sarebbe stata osservata anche da LUSSANA, GERLACH ed EBERHARDT, nella rana. PHILIPEAUX, estirpata la milza a dei topi bianchi, ha visto, dopo diciotto mesi, la completa rigenerazione di quest'organo. Tali risultati sono infirmati dalle esperienze di PEYRANI, il quale nei porcellini d'India non vide mai nuove formazioni di milza, dopo l'ablazione di quest'organo. Si giunge così ai classici lavori di TIZZONI e FILETI sull'argomento. Dopo la splenectomia nel cane, fu da questi autori osservata una neoformazione di noduli splenici, a preferenza nel grande epiploon, fino al numero di sessanta. Due anni dopo, in un nuovo lavoro sulla neoformazione della milza, consecutiva a processi patologici della milza primaria, TIZZONI esponeva una serie di esperienze e di studi, secondo i quali si avrebbe neoformazione di noduli splenici accessori in casi di alterazioni patologiche della milza grande, e a preferenza per splenite indurante di quest'organo. Questi noduli neoformati sarebbero tanto più numerosi, quanto più il processo patologico della milza sarebbe intenso. Tali noduli di neoformazione si troverebbero a preferenza disseminati nel ligamento gastro-splenico.

FOÀ al contrario negherebbe questa neoformazione di noduli splenici, dopo l'ablazione della milza. Lo stesso TIZZONI posteriormente (1884) non avrebbe potuto riscontrare dopo la splenectomia nei conigli alcuna neoformazione di noduli splenici. ETERNOD avrebbe visto realmente la neoformazione di una piccola milza dopo 160 giorni, in una giovane volpe operata di splenectomia.

I risultati dagli sperimentatori ottenuti colla splenectomia parziale negli animali si discostano alquanto da quelli ottenuti colla splenectomia totale. FOÀ ha eseguito negli animali escissioni cuneiformi di milza alcune volte, altre volte ha profondamente cauterizzato quest'organo col termocauterio. Egli al reperto istologico di queste milze ha osservato una grande quantità di elementi nucleari in gemmazione simili a quelli che si riscontrano nella milza fetale.

Dopo un mese dall'operazione ha potuto osservare forte iperplasia dei follicoli di Malpighi, la polpa splenica in fase evidentemente ematopoietica, con grande quantità di corpuscoli rossi nucleati. Quest'autore crede che in seguito alla distruzione parziale della milza, si operi in quest'organo una rigenerazione degli elementi splenici distrutti, collo stesso meccanismo che si osserva nello sviluppo embrionale della milza. GRIFFINI e TIZZONI pure credono che la perdita di sostanza artificialmente portata sulla milza, sia riparata dalla neoformazione

di un tessuto connettivo embrionale, derivante o dalla trasformazione diretta dell'epiploon insinuatosi nella ferita della milza, o dalla proliferazione stessa dell'epiploon fattosi aderente alla superficie della milza in prossimità dell'incisione.

Uno dei lavori più recenti sulla rigenerazione parziale della milza, appartiene a KREBSBACH. Secondo quest'autore che ha esperimentato sui conigli, la perdita di sostanza che artificialmente si porta sulla milza, viene in capo a pochi giorni riparata con un tessuto identico a quello splenico, in seguito a mitosi attivissime degli elementi fissi della polpa splenica, al tempo stesso che si vede comparire nelle maglie della polpa, un numero grandissimo di leucociti mononucleati.

CERESOLE infine, in una lunga serie di esperienze, di recente pubblicate, dice che la rigenerazione parziale della milza non si effettua realmente. Si ha la cicatrice della ferita, per una divisione indiretta delle cellule fisse del reticolo della milza, in prossimità della ferita stessa. La divisione indiretta si riscontra specialmente nei primi giorni dopo l'operazione. Quanto più ce ne allontaniamo queste figure mitotiche si fanno sempre più scarse, e il tessuto connettivo che riempie la ferita splenica, va facendosi man mano più denso.

La casuistica che abbiamo di neoformazione di noduli splenici nell'uomo per alterazione della milza, è abbastanza scarsa. Un caso molto importante appartiene al prof. MAFFUCCI. Come il TIZZONI nel cane, per splenite indurante ha potuto osservare una neoformazione di milze accessorie, così il caso illustrato dal prof. MAFFUCCI si riferisce ad un individuo di cui la milza all'autopsia fu riscontrata fortemente atrofica, con trabecole fortemente ispessite, che solcavano irregolarmente il parenchima splenico.

Coll'esame microscopico si riscontrarono nella milza una serie d'infarti, residui dei quali erano profonde cicatrici nel parenchima stesso. Nel legamento gastro-splenico, si riscontrarono una gran quantità di piccoli noduli di colorito rosso fosco, alcuni della grandezza di un pisello, altri innumerevoli, grandi quanto la testa di uno spillo. Nel mesocolon, nel grande omento, si trovarono altri noduli disseminati, di varia grandezza. Nel mesentere le glandule linfatiche erano ingrandite, e si trovavano allo stadio midollare. Caso questo importantissimo, di neoformazione di piccole milze nell'uomo, per processo patologico della milza grande. Ciò che alcuni degli sperimentatori precedentemente citati, ottennero coll'estirpazione parziale o totale della milza, si osservò nell'uomo nel caso illustrato dal prof. MAFFUCCI, distrutta quasi completamente la milza grande, da processi patologici. Alla rigenerazione della milza secondo il prof. MAFFUCCI concorrerebbe il grande omento, quando si stabiliscano aderenze tra questo e la milza stessa. I follicoli peritoneali si potrebbero iperplasizzare per funzione vicariante nelle lesioni spleniche come il tessuto dell'omento, trasformandosi in tessuto adenoide, potrebbe contribuire alle rigenerazione della milza.

Un caso consimile, di milze soprannumerarie, è quello di recente studiato dal prof. TEDESCHI. Il caso del prof. TEDESCHI ha molta analogia con quello sopra descritto. Si trattava di una giovane donna, all'autopsia della quale furono riscontrate due milze soprannumerarie del volume di una noce avellana, nell'epiploon gastro colico. Nel grande omento altri moltissimi noduli (circa 50) di aspetto splenico, di differente volume. La milza grande ectopica, di forma irre-

golare, con vari infossamenti, con capsula tesa ed ispessita. La superficie di taglio si presentava di colorito rossastro, e qua e là disseminati piccoli punti grigio rossastri, ricordanti i corpuscoli di Malpighi. L'autore crede che per la torsione del peduncolo splenico in seguito allo spostamento della milza, si sieno nella milza stessa verificati degli infarti, che hanno ridotto notevolmente la massa di quest'organo, determinando una condizione non dissimile a quella che si verifica nelle resezioni spleniche sperimentali. In tal modo le milze soprannumerarie sarebbero non un fatto congenito, ma l'esponente di una neoformazione di tessuto splenico, in seguito a parziale abolizione funzionale della milza grande.

Infine, un altro caso abbastanza interessante è quello di recente studiato da ALBRECHT. Quest'autore ha trovato una grande quantità di piccoli noduli di grandezza varia, disseminati su tutto quanto il peritoneo e sul mesentere. Al reperto istologico, tali noduli sono stati riscontrati costituiti da tessuto splenico.

Nel campo patologico, abbiamo ben poco sulla rigenerazione della milza. Lo studio della distruzione e della consecutiva rigenerazione del parenchima splenico nelle infezioni fu già intrapreso dal mio maestro prof. MAFFUCCI (1). Le

(1) È una nota preliminare pubblicata nel 1883 nel giornale « Il movimento medico-chirurgico, » anno XV, fasc. VI, Napoli. In questa nota sono descritte le alterazioni riscontrate nelle milze di cinque cani, uccisi a diversi periodi dell'infezione. Le conclusioni dell'autore sono le segnenti:

I. Nell'esperimento primo si è avuta una formazione di nuovi elementi nella polpa e nei follicoli, e trasformazione del reticolo in fibrille grosse e di struttura granulosa, come pure la dilatazione di tutti gli spazi connettivali, capsulari, trabecolari e perivasali.

II. Nel secondo esperimento gli elementi neoformati dei follicoli, dei cordoni midollari, e del resto della polpa, si sono ingranditi di volume e sostanza, e si sono verificati ancora tutti i fatti del caso precedente, perchè il processo infiammatorio trovasi ancora nelle sue prime fasi, specialmente nella dilatazione degli spazi connettivali.

III. Passando più tempo gli elementi giovani neoformati della milza hanno acquistato un vero carattere epitelioide, con la scomparsa della sostanza delle fibrille del reticolo, dietro la loro trasformazione in granuli protoplasmatici.

IV. Persistendo il processo infiammatorio sotto la stessa causa, ma di minore intensità, gli elementi neoformati perdono in parte la loro sostanza, e divengono più piccoli, non perdendo il loro carattere di giovani elementi, e fra gli stessi gradatamente comincia a riformarsi di nuovo una sostanza intercellulare, e si ricostituisce l'antico reticolo; e si ricostituiscono i vasi e le trabecole con elementi molto giovani.

V. Finalmente tutta questa produzione di giovani elementi riprende il carattere di un tessuto linfoide adulto.

VI. Con la perfetta formazione di un tessuto embrionale senza sostanza intercellulare nel terzo esperimento, coincideva il massimo numero di cellule con nucleo in gemmazione.

VII. La formazione di un tessuto linfoide perfetto nel 4° esperimento coincideva con la scarsezza di corpuscoli rossi nucleati nell'esame a fresco della milza, e con l'abbondanza dei leucociti.

VIII. La milza per questi fatti sopra accennati è passata dallo stato adulto all'embrionale, rinnovando i suoi elementi, perdendo il loro tipo di struttura, ma di nuovo è ritornata allo stato adulto, rifacendo il suo parenchima sul tipo normale.

IX. Il prodotto funzionale della milza ha seguito le stesse fasi della vita embrionale ed adulta, a seconda lo stadio che quest'organo ha attraversato.

X. Tutti questi fatti riscontrati nella milza sono in accordo con quanto si verifica negli altri tessuti connettivi sottoposti ad un processo infiammatorio di una certa durata, cioè che dopo la formazione di un tessuto embrionale di granulazione passa in un tessuto adulto fibroso, la cosidetta cicatrice, o nella perfetta ripristinazione del tessuto matrice, come è avvenuto nella milza.

scarsissime cognizioni di batteriologia che allora si avevano, non permisero al prof. Maffucci di potere sperimentare sugli animali servendosi di virus attivi ben definiti, e di potere fare uno studio del tutto completo sull'argomento. Egli determinava il tumore di milza nei cani iniettando nel peritoneo delle sostanze putride, ed andava poi a studiare le alterazioni che si andavano svolgendo nella milza, nel corso dell'infezione.

Con mezzi molto più vasti, precisi e sicuri a mia disposizione, ho ripreso lo studio di quest'argomento, intraprendendo una lunga serie di esperienze, e facendo osservazioni collaterali sul modo di decorrere della temperatura negli animali d'esperimento in relazione alle lesioni spleniche, e sulla più o meno alterata funzione ematopoietica della milza che in alcune esperienze ho studiato, nei diversi periodi di distruzione e di rigenerazione della milza stessa.

Tumore di milza. — Occupandomi della rigenerazione del parenchima splenico nei morbi d'infezione, sembrami indispensabile accennare sommariamente alle più autorevoli interpetrazioni, che valorosi scienziati hanno dato al tumore di milza. Sintoma quasi costante, ora più, ora meno accentuato a seconda della gravità e della natura della malattia, è il tumore di milza nel corso di un'infezione. Birch-Hirschfeld considera il tumore di milza come una splenite acuta, mentre Ziegler crede che la tumefazione della milza sia determinata quasi esclusivamente da un'iperemia congestiva. Sokoloff ritiene che i microrganismi che entrano in circolo e recapitano nella milza, irritino le cellule della polpa, e causino l'ostruzione dei vasi, per cui il tumore di milza sarebbe determinato dalla stasi che si verifica nella milza, in seguito all'occlusione vasale. Erlich e Pomfich considerano il tumore splenico quasi completamente d'origine spodogena, cioè determinato dal disfacimento degli elementi figurati del sangue che si ha nel corso di un'infezione.

Orth crede che il tumore acutò di milza sia a preferenza determinato da una forte iperplasia delle cellule endoteliali spleniche, prodotta dallo stimolo che esercitano su di esse i veleni batterici, che si trovano nell'organismo nel corso di un'infezione. Uno studio accurato sul tumore di milza appartiene a Martinotti e Barbacci.

Rindfleisch crede che la tumefazione della milza che si osserva in molte malattie infettive, sia determinata dall'enorme distruzione di corpuscoli rossi che si effettua in quest'organo durante la malattia da infezione. Per Rivalta che ha studiato il tumore di milza infettivo, esso sarebbe l'esponente di una iperattività neoformativa dell'organo, determinata da cause tossiche.

Fagocitosi. — La tumefazione della milza ci indica quanta parte giuochi quest'organo nel corso di un'infezione. In una larga serie di malattie infettive, il suo volume aumenta, principalmente quando i germi patogeni si trovano direttamente nel sangue, o più specialmente quando essi si sviluppano a preferenza nella polpa splenica, come avviene nel tifo, nella malaria, ecc. Nel corso della malattia da infezione, questo viscere lo troviamo fortemente congesto, tumefatto; esso diviene allora la sede di un'attiva proliferazione di elementi cellulari, di un'intensa fagocitosi, favorita specialmente dalla lentezza della circolazione splenica. La funzione fagocitaria, che si effettua in tutto l'organismo, ma a prefe-

renza nella milza, ci spiega in molte infezioni il significato del tumore di milza. Questa proprietà fagocitica non la posseggono solo i leucociti, e di essi solo gli uninucleari grossi e piccoli; una funzione attivamente fagocitaria viene esercitata ancora dalle cellule stellate del fegato, e dalle cellule endoteliali della polpa splenica a preferenza. È in queste ultime cellule in cui si è potuta dimostrare attivissima la fagocitosi, contro i microrganismi che tanto facilmente recapitano nella milza. La fagocitosi però, questa funzione tanto importante della vita animale, non si esplica, come ben sappiamo dalla patologia, in modo uguale su tutti i microrganismi; possiam dire che quanto più i microbi sono patogeni, tanto meno essi vengono incorporati dai fagociti, e quindi l'infezione acquista i caratteri di una eccezionale gravità. Così avviene nel colèra dei polli, nella setticemia delle cavie, ecc., malattie queste in cui la fagocitosi è minima, ed in cui troviamo nel sangue una quantità enorme di microrganismi liberi. In altre infezioni poi, per quanto avvenga una chemiotassi positiva, e quindi molto intensa sia la fagocitosi, pure la sostanza fortemente tossica secreta dai microrganismi, paralizza il potere distruttore, fagocitario dei leucociti, ed avviene allora la morte per avvelenamento dei leucociti stessi, i quali, sia quelli che muoiono nel circolo generale, sia quelli che nei vari organi linfatici combattono contro l'infezione invadente e soccombono, vengono presi, e dalla corrente sanguigna portati nella milza, ove coi corpuscoli rossi pure in distruzione, contribuiscono alla formazione di quel tumore di milza di origine spodogena che in molte infezioni si osserva. In queste infezioni a decorso acuto con potere fortemente tossico, maggiore è la distruzione degli elementi figurati del sangue che si opera nel circolo generale, maggiori le alterazioni, fino a vere necrosi, che si riscontrano nella milza. In infezioni a decorso cronico invece, quali la tubercolosi, la lebbra, il farcino, in cui il fagocitismo è molto attivo, perchè lenta è la intossicazione, difficilmente si riscontra un vero tumore di milza, ed in quest'organo si riscontrano minori alterazioni. Spesso in queste infezioni, a meno che lesioni tubercolari vere e proprie non si sieno stabilite nella milza, si trova in quest'organo al massimo un'iperplasia follicolare, che sta a dimostrare la iperattività formativa leucocitaria di cui l'organismo ha bisogno per lottare contro l'infezione. Ed è nel corso di queste infezioni a decorso cronico che se andiamo a studiare come la milza, tutti gli altri apparecchi linfatici dell'organismo, noi, specialmente all'inizio dell'infezione troveremo nelle glandule linfatiche uno stadio iperplastico, midollare delle stesse, che ha identico significato morfologico della iperplasia dei follicoli della milza, che si verifica in queste infezioni. È coll'aiuto di questi elementi linfoidi che l'organismo vince un'infezione. Se tali leucociti poi sieno antagonisti alla vita batterica per le loro proprietà fagocitarie, o perchè abbiano il potere di secernere una sostanza capace di rendere l'organismo inadatto alla vita batterica, è una questione non ancora completamente risoluta. Hankin sostiene in proposito la dottrina degli *alessociti*. Con questo nome egli qualifica le cellule eosinofile di Ehrlich. Questi leucociti avrebbero la proprietà di secernere delle alessine o sostanze germicide, le quali si diffonderebbero nel plasma sanguigno. Per Hankin alcuni elementi avrebbero proprietà esclusivamente fagocitarie, altri, mancanti assolutamente di tali proprietà, quali le cellule eosinofile,

agirebbero contro i microrganismi, in virtù delle loro speciali secrezioni. Questo autore ha scoperto nella milza a preferenza dei proteidi, delle globuline difensive, che non sarebbero che secrezione diretta di questa varietà di leucociti, che si trova in abbondanza nella milza. Kanthack e Buchner, ammettono essi pure nelle forme eosinofile una secrezione antagonista alla vita batterica. Comunque, è alle diverse proprietà dei leucociti, che noi dobbiamo la parte maggiore di resistenza, che opponiamo contro un'infezione. Quanto dunque è provvidenziale per l'organismo, la distribuzione in grande quantità del tessuto linfoadenoideo, da cui le cellule migratorie provengono, e si spargono in tutto l'organismo, alla difesa dello stesso contro un'infezione invadente!

Rigenerazione degli organi linfatici. — I fenomeni di rigenerazione che avvengono nella milza in seguito ad un'infezione, trovano un riscontro esatto nel meccanismo di rigenerazione, che in altri organi simili si verifica. Nelle glandule linfatiche infatti si è studiato il meccanismo della rigenerazione loro, dopo un processo patologico. Quanto è dunque importante, accanto allo studio della rigenerazione del parenchima splenico, lo studio della rigenerazione del parenchima delle glandule linfatiche. Su questo argomento pure, ha portato la sua contribuzione sperimentale il prof. Maffucci.

Era infatti di grande importanza lo studiare come una glandula possa ritornare al suo stato normale, dopo essersi tumefatta, dopo essere stata presa da un processo morboso. Il prof. Maffucci ha potuto sperimentalmente riprodurre nei cani lesioni glandulari più o meno gravi. Studiando poi istologicamente le glandule stesse a diversi periodi dell'infezione, esso ha potuto dimostrare che il periodo d'ingorgo delle glandule linfatiche è costituito da un'attiva proliferazione degli elementi endoteliali e da un accumulo maggiore di elementi linfoidi. Tutta questa neoformazione, cade in degenerazione grassa, mentre il tessuto della capsula e dello stroma della glandula acquista carattere mixomatoso. Dagli endoteli residuali si inizia una produzione cellulare di aspetto embrionale; i seni linfatici sotto capsulari sono fatti dalla dilatazione delle fessure linfatiche del tessuto connettivo peri-capsulare, e questi seni si neoformano quando il tessuto embrionale si è trasformato in tessuto adenoide. Le trabecole dei vasi linfatici contribuiscono alla formazione del reticolo. Il detrito della sostanza glandulare distrutto viene assorbito dai leucociti. Le glandule linfatiche quindi rigenerandosi, non solo ripetono la loro normale struttura, ma nella loro prima fase di rigenerazione, ripetono ancora la struttura e la funzione della loro vita embrionale.

Un lavoro postumo a quello del prof. Maffucci sulla rigenerazione delle glandule linfantiche nei morbi infettivi appartiene al Ribbert, il quale riconferma i fatti osservati dal prof. Maffucci. Egli portando alterazioni sperimentali sulle glandule linfatiche con virus differenti, ed andando poi a studiare queste glandule a diversi periodi, ha potuto riscontrare che la rigenerazione del parenchima glandulare proviene dall'endotelio dei dotti linfatici, dalle cellule fisse del reticolo, e dagli elementi delle pareti vasali. Tutti questi elementi sono in attiva proliferazione. I linfociti non sarebbero che diretta filiazione delle cellule endoteliali. Le cellule linfatiche tipiche del tessuto glandolare, solo lontanamente parteciperebbero al processo di riparazione. Esaurito in una glandula un processo

infiammatorio, compare la proliferazione di cellule endoteliali, che riempiono le maglie dell'alterato reticolo, e dopo ulteriore accrescimento divengon linfociti.

Con più ampie vedute è mio intendimento di riprendere lo studio di questa parte della patologia sperimentale, con una serie di ricerche che saranno l'oggetto di una mia futura pubblicazione.

Embriogenesi ed evoluzione della milza. — Innanzi di venire all'esposizione della tecnica in queste mie ricerche seguita, e alla minuta descrizione dei singoli esperimenti, sembrami utile intrattenermi alquanto sull'origine embrionale della milza.

Nel corso delle mie esperienze per l'interpetrazione di molti fatti dovrò riportarmi ben di sovente alle cognizioni embriogenetiche che sulla milza attualmente si hanno Era quindi assoluta necessità dovermi intrattenere alquanto sull'esposizione sintetica dei principali lavori, e delle più autorevoli conclusioni riferentisi all'embriogenesi di quest'organo.

Nell'uomo, secondo le ricerche del Köllicker la milza si svilupperebbe tardivamente, nel corso del secondo mese, al trentottesimo giorno secondo Robin, molto tempo più tardi del fegato e degli altri visceri. Essa da principio si mostra sotto forma di un ispessimento che si manifesta nella ripiegatura peritoneale che lega la parte superiore dell'intestino alla parte posteriore della cavità addominale; la ripiegatura peritoneale prende il nome di *mesogastrio* o *mesoduodeno.* La milza è in origine immediatamente accollata a formazioni molteplici tutt'affatto differenti l'una dall'altra, quali il bottone pancreatico posteriore, la vena primitiva dell'intestino o vena sotto intestinale, l'intestino, e infine l'epitelio del foglietto peritoneale nello spessore del quale essa si sviluppa. La funzione istogenetica di queste diverse formazioni, è stata successivamente e con diverse teorie sostenuta. Secondo Phisalix, negli anfibi la milza originerebbe da un ispessimento seguito da un'invaginazione dell'epitelio del mesogastrio. Per Toldt e Köllicker quest'ispessimento sarebbe fatto a spese dell'epitelio celomico a sinistra del mesogastrio. Di recente, molti autori hanno sostenuto l'origine della milza dall'epitelio intestinale.

Küpffer ammette esso pure l'origine endodermica della milza, ma non dall'epitelio intestinale, ma dai bottoni pancreatici. Tale origine sembrerebbe ben dimostrata nello storione. Negli uccelli la milza proviene in parte dal mesenchima della splacnopleura (mesoduodeno) in parte dal bottone cellulare della porzione dorsale del pancreas. Nella trota la milza in origine si trova accollata al bottone pancreatico. Essa offre rapporti di contiguità immediata con la vena sotto intestinale, o come in altri vertebrati, con uno dei suoi principali affluenti. Questa sull'inizio non è che un semplice ispessimento del mesenchima intestinale, a cui l'epitelio del peritoneo non prende parte alcuna. In quest'ispessimento del mesenchima, cominciano a comparire ammassi di cellule rotonde, con contorni regolari, e che sono i cosidetti *nuclei d'origine del Pouchet,* i quali divengono poi gli elementi propri della polpa splenica. L'endotelio della vena sotto-intestinale si avanza nell'ispessimento mesenchimale che costituisce il bottone splenico; nel bottone splenico stesso cominciano a comparire delle piccole cavità rotondeggianti che divengono poi comunicanti, e che solcano il bottone

splenico irregolarmente e tortuosamente come tante lacune. La vena intestinale riempie di sangue tali lacune.

A grado a grado poi queste cavità prendono un aspetto più regolare, e le cellule che le limitano assumono un aspetto endoteliale. Sino a questo momento la circolazione della milza è di esclusiva dipendenza della vena porta. Non è che tardivamente che si cominciano a formare dei capillari arteriosi, che man mano aumentano di calibro, e che traggono origine dalla arteria sotto-intestinale. In alcune zone della milza manca la circolazione lacunare, e tali zone così rispettate, sono quelle che costituiscono la cosidetta *polpa bianca* molto sviluppata nei pesci, e che nei mammiferi, di molto ridotta, costituisce quelli che diconsi corpuscoli di Malpighi. Ma tanto nei pesci la polpa bianca, come nei mammiferi i corpuscoli di Malpighi, hanno identico significato morfologico. Son luoghi di riserva dei globuli bianchi, i quali a misura che si formano cadono nel sistema lacunare della polpa rossa, donde poi vengono portati nel circolo generale.

Una serie di accurate ricerche sullo sviluppo della milza negli anfibi, appartiene a Maurer. L'autore ammette l'origine endodermica della maggiore parte delle cellule linfatiche, e degli organi che ne derivano, glandule, milza, ecc. Queste cellule apparirebbero tardivamente nella vita embrionale, e sarebbero filiazione diretta dell'epitelio intestinale. La milza sarebbe un semplice accumulo di questi elementi, lungo il decorso dell'arteria mesentrica principale; quest'organo sarebbe quindi, benchè indirettamente, di origine endodermica.

Innanzi di chiudere questo breve riassunto dei più recenti studi sinora eseguiti sull'embriologia della milza, sembrami opportuno citare qui le interessanti ricerche eseguite dal Laguesse sullo sviluppo della milza nei pesci. Tale lavoro è uno dei più completi che si conoscano sull'argomento Le conclusioni che dalle ricerche del Laguesse si possono trarre, sono le seguenti:

La milza appare assai tardivamente nell'embrione dei pesci, in immediato rapporto colla vena sottointestinale, nello spessore della parete mesodermica primitiva dell'intestino, di cui essa è una semplice gittata a sinistra dell'inserzione del mesentere primitivo; più tardi, per sdoppiamento di questa parete (invaginazione della retrocavità degli epiploon) essa si trova compresa nello spessore del mesogastrio di formazione secondaria. Dapprincipio è situata nella regione duodenale; poi gradatamente si avvicina allo stomaco, fino ad accollarsi alla sua gran curvatura. Il tessuto splenico è sull'inizio un semplice ispessimento del mesenchima, il quale viene ad essere formato da cellule stellate, anastomizzate tra loro, contenenti nelle loro maglie numerosi elementi cellulari rotondi. Il diverticolo delle cellule stellate del mesenchima, va modificandosi, e costituisce poi il definitivo reticolo della milza. Gli elementi contenuti in questo reticolo divengono gli elementi liberi della polpa, o nuclei d'origine, da cui poi nascono, i globuli bianchi, e più specialmente i globuli rossi. La milza per quest'autore è dunque sin dal suo inizio un organo ematopoietico.

Le vene della milza si formano molto presto, e in un modo affatto speciale. Esse non sono che lacune irregolari che man mano si regolarizzano, e si mettono in comunicazione colla vena sottointestinale. La milza è in origine una specie di seno venoso reticolato, posto come un diverticolo nel sistema della vena porta.

Il tessuto splenico è dunque una formazione tutt'affatto speciale, e sino ad un certo punto può essere considerata come una specie di residuo del mesenchima embrionale, destinato alla rigenerazione dei globuli del sangue, ed in cui gli elementi propri del connettivo, e gli elementi vascolari, restano confusi, come si trovassero ancora nel mesenchima primitivo.

Come altri ricercatori in altri animali io pure con preparati in serie di embrioni di pollo, gentilmente favoritimi dal prof MAFFUCCI, posso dimostrare l'origine mesenchimale della milza nel pollo, fatta a spese della parete mesodermica dell'intestino, da cui si solleva come un bottone, in mezzo al quale possiamo agevolmente riconoscere cellule rotonde mesenchimali, corrispondenti ai cosidetti nuclei d'origine del POUCHET. Nel mezzo a questo bottone mesenchimale si fa strada la vena sottointestinale, la quale darà poi la circolazione sanguigna al sistema lacunare splenico. Ho creduto utile di riportare un disegno dei preparati nostri sulla genesi della milza nell'embrione di pollo, molto simile al disegno del LAGUESSE (confronta la figura del trattato d'istologia del RENAUT, pag. 1812, vol. III, *Sullo sviluppo della milza nella trota*). Esposto così sommariamente tutto ciò che di più importante si conosce sulla genesi della milza, passo ora alla descrizione minuta della tecnica che ho seguìto nei miei esperimenti, ed ai criteri che mi hanno guidato nel condurre gli esperimenti stessi.

ESPERIMENTI.

Tecnica. — Onde approssimarmi il più che fosse possibile a ciò che si verifica nell'organismo umano nel corso di un'infezione, la quale consecutivamente volga a guarigione, io doveva riprodurre sperimentalmente il tumore di milza in animali i quali dipoi potessero completamente guarire dall'infezione, per studiare istologicamente il processo che nella milza si era andato svolgendo durante la malattia, e dopo la completa guarigione di essa. A questo scopo mi sono servito di animali che fossero molto resistenti ad un'infezione, e che ciò nondimeno ne subissero tutto quanto il corso, senza però avere nella maggioranza dei casi la morte degli animali stessi. Ho perciò preso per animali d'esperimento i cani, ed ho loro iniettato virus carbonchioso, al quale per quanto fortemente reagiscano, pure il più delle volte vincono l'infezione, e guariscono completamente. Ho iniettato nella giugulare di cani di differente età culture in brodo virulentissime di bacillo del carbonchio, tenute per 24 ore nel termostato a 37°. Saggiando antecedentemente con ripetute iniezioni nella giugulare il grado di tollerabilità del virus carbonchioso da parte degli animali, ho potuto iniettare ai cani dosi fortissime di culture di carbonchio, fino a giungere ad iniettare circa 3 cc. di cultura, per ogni chilogrammo di peso dell'animale. Alcuni cani, per quanto pochi, sono morti spontaneamente, alcune volte di carbonchiosi acuta, altre poche volte di carbonchiosi lenta; la maggior parte degli animali ha potuto però sopportare queste elevate dosi di virus carbonchioso, e dopo un tempo più o meno lungo a seconda della resistenza dell'animale, si è avuta la guarigione completa. Ho tenuto conto esattissimo negli animali d'esperimento del modo di decorrere della

temperatura, la quale mi era di criterio esatto per conoscere la minore o maggiore gravità con cui nell'animale si andava svolgendo l'infezione, e quando questa veniva ad esaurirsi.

Ho pure messo a profitto le variazioni di peso dell'animale, poichè col ritorno del peso perduto coincideva la completa rigenerazione della milza. Coll'inizio dell'aumento del peso perduto, coincideva negli altri animali l'inizio della rigenerazione della milza, ed il completo esaurimento dell'infezione. In tal modo, uccidendo gli animali a diversi periodi dopo l'iniezione di carbonchio nella giugulare, cominciando dalle prime dodici ore, e progressivamente giungendo fino ad un limite di tempo molto lontano dall'iniezione stessa, sino a cinque mesi, io ho potuto studiare il modo di decorrere dell'infezione carbonchiosa nel cane, le alterazioni che questa determina nella milza dell'animale, i diversi stadi consecutivi che la milza attraversa, per ritornare, ad infezione esaurita, allo stato normale. Ho in tal modo studiato nel cane, il meccanismo della rigenerazione della milza nei morbi infettivi.

A qual periodo dell'infezione tale rigenerazione s'inizia? È compatibile l'iniziarsi della rigenerazione del parenchima splenico colla presenza del microbio nell'organismo? Mi sono proposto di rispondere a questo quesito, ed a tal uopo ho usato la tecnica seguente: dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene dei cani innestati con carbonchio ho fatto per ciascun esperimento culture per infissione in gelatina ed in agar, onde poter conoscere quanto tempo il microbio del carbonchio resta vivente, in un animale non fortemente sensibile ad esso, quale è il cane. Lo sviluppo delle culture in gelatina ed in agar, se mi dava la prova della vitalità del bacillo, non mi faceva conoscere però il grado di una possibile attenuazione di virulenza che il bacillo stesso poteva subire, nel suo passaggio attraverso un organismo animale ad esso poco favorevole.

Per saggiare allora la virulenza del bacillo stato per periodi di tempo differenti a seconda degli esperimenti, nell'organismo del cane, con piccoli frammenti di organi di ciascun cane ho innestato alcune cavie, e dalla reazione maggiore o minore, di questi animali all'innesto, ho potuto dedurre il grado di virulenza che il bacillo del carbonchio aveva conservato nell'organismo del cane. Contemporaneamente l'esame istologico della milza del cane, eseguito in ciascun esperimento, mi ha fatto conoscere lo stato della milza, in relazione alla presenza o assenza del bacillo del carbonchio nell'organismo dell'animale. Un altro animale, che ho messo a profitto in queste mie esperienze, è stato il coniglio. Al coniglio, suscettibile all'infezione tifica, ho iniettato culture in brodo attenuate di bacillo d'Eberth, in modo che l'animale potesse subire l'infezione e consecutivamente vincerla per studiare poi istologicamente, a diversi periodi dell'infezione stessa le lesioni che si andavano svolgendo nella milza, e la consecutiva graduale rigenerazione dell'organo. Ho potuto in questi animali iniettare dosi relativamente forti di cultura di tifo, sino a giungere a circa 3 cc. per chilogrammo di animale. Come nelle esperienze sui cani, così in queste sui conigli ho tenuto conto delle variazioni di peso degli animali, e delle oscillazioni della temperatura nel corso dell'infezione.

Gli animali, eccetto pochi, dopo avere presentato più o meno intensamente

i sintomi dell'infezione, sono gradatamente ritornati al loro stato normale. Cominciando dalle prime ore dopo l'innesto del bacillo di Eberth, e giungendo sino ad un mese e mezzo dall'iniezione, ho ucciso gli animali a diversi periodi, per potere studiare istologicamente le diverse fasi di distruzione e di rigenerazione che la milza attraversa. I mezzi di colorazione che io ho adoperato per i miei preparati sono stati molteplici. Miglior risultato mi hanno dato il carminio litico, e l'ematossilina alluminata per la colorazione degli elementi istologici della milza. Una ricerca che ho praticato a corredo dei miei esperimenti sia sui cani che sui conigli, è stato l'esame del sangue splenico, ed il dosaggio dell'emoglobina del sangue stesso. Tale ricerca non è stata eseguita su tutti i cani di esperimento, ma in alcuni solamente, a differenti periodi dell' infezione. La tecnica che ho usato nell'estrazione del sangue direttamente dalla vena splenica è stata la stessa già da me adoperata sui conigli e sulle cavie in una precedente serie di ricerche che pubblicai lo scorso anno. Per l'esame del sangue ho adoperato l'ematimetro Hayem-Nachet, per il dosaggio dell'emoglobina l'apparecchio di Fleisch.

In queste mie esperienze ho eseguito tale ricerca, allo scopo di conoscere il modo di comportarsi dell'ematopoiesi splenica e dell'emoglobina del sangue splenico, in relazione ai diversi periodi di distruzione e di consecutiva rigenerazione che il parenchima splenico attraversa nel corso di un'infezione, per ritornare al suo stato normale.

Inoltre sappiamo che un organo può dirsi completamente rigenerato quando ha riacquistato tutti i suoi poteri funzionali fisiologici. La funzione della milza, la meglio accertata, come lo dimostrano i lavori di Malassez e Picard, Bizzozero e Salvioli, Foà e Salvioli, Tizzoni, Laudembach, ecc., ed i miei, è la funzione ematopoietica. Il trovare nei miei esperimenti la funzione ematopoietica della milza completamente ritornata allo stato normale, mi indicava come la milza si fosse completamente rigenerata, poichè di essa si erano ristabilite le funzioni essenziali. Infine, perchè tutti questi miei esperimenti avessero un riscontro esatto in ciò che avviene nell'uomo nel corso di un'infezione, io ho tra le numerosissime autopsie di tifosi eseguite durante l'anno, scelte alcune milze di tifosi morti nel primo periodo di malattia, ed altre milze di individui, nei quali si era avuta completa guarigione dell'infezione tifica, e morti poi per paralisi cardiaca Di tali milze ho praticato l'esame istologico, ed ho potuto in tal modo pure nell'uomo, ravvicinarmi al concetto che ha guidato i miei esperimenti sugli animali, quello cioè di cogliere la milza e nell'acme di un' infezione, col classico tumore splenico, ed in periodi consecutivi, in cui l'infezione esauritasi si inizia nella milza il processo di rinnovellamento del suo parenchima che deve riportare l'organo alla sua completa restitutio ad integrum.

Complessivamente il numero delle mie esperienze, comprese quelle eseguite sulle cavie alle quali accennerò più oltre, è stato il seguente:

Cani	N. 19
Conigli	» 8
Uomo	» 6
Cavie	» 48

ESPERIMENTI.

Esperimento I. — Cane del peso di kg. 6. 500 innestato nella vena giugulare con 19. 5 centimetri cubici di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

L'animale si uccide dopo 12 ore dall'innesto. Diminuito di peso di gr. 100. Temperatura 39°.

Esame macroscopico della milza. — Milza di volume normale, di colorito bluastro. Al taglio stasi abbastanza forte. Follicoli poco appariscenti. La capsula si presenta di aspetto rugoso.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato, e dal rene del cane. Dopo 24 ore si ha abbondante sviluppo delle culture. Si esaminano, e si riconosce la presenza del bacillo del carbonchio.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli di volume e di aspetto normale.

L'arteria centrale si mostra leggermente dilatata.

Trabecole spleniche non presentano niente di speciale.

Forte ingrandimento: I follicoli non presentano niente di speciale. L'endotelio dell'arteria centrale è normale. Esiste stasi nella polpa. Il reticolo, specialmente in alcuni punti, è molto appariscente. Le cellule endoteliali presentano il loro nucleo poco colorato al carminio. In certe zone della polpa, esiste un essudato fibrinoso. Leucociti poco abbondanti. Scarsissimo pigmento sanguigno. Polpa splenica alquanto aumentata nei limiti suoi.

Esame del sangue:

Sangue carotideo, globuli rossi	4,805,000;	globuli bianchi	6,200
» splenico, »	4,229,000;	»	7,500

Esame dell'emoglobina del sangue splenico: 8.5.

Esperimento II. — Cane del peso di kg. 4. 925, innestato nella vena giugulare con 15 centimetri cubici di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

L'animale si uccide dopo 24 ore dall'innesto. Diminuito di peso grammi 225.

Temperatura del cane:

Dopo 12 ore dall'innesto 38°. 5.

Dopo 24 ore dall'innesto 40°.

Esame macroscopico della milza:

Milza leggermente tumida, con capsula tesa, di colorito bluastro. Al taglio si ha stasi. I follicoli sono poco appariscenti.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, milza, fegato, rene del cane. Dopo 12 ore si ha rigoglioso sviluppo di caratteristiche culture di carbonchio, di cui si fa l'esame microscopico.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli di volume normale, fortemente infiltrati di leucociti. Polpa di aspetto normale. Trabecole molto appariscenti, ma non presentano niente di speciale.

Forte ingrandimento: Follicoli con arterie centrali dilatate, con rigonfiamento dell'endotelio. Gli elementi del follicolo presentano il loro aspetto normale.

Polpa con reticolo molto appariscente, e con abbondantissimi leucociti. Quà e là esistono zone con un detritus granulare. Nei vasi, abbondanti leucociti. Cellule fisse del reticolo, molto manifeste. Non esiste pigmento sanguigno.

Esame del sangue:

Sangue carotideo, globuli rossi	3,751,000;	globuli bianchi	7,700
» splenico, »	3,689,000;	»	8,900

Esame dell'emoglobina del sangue splenico: 7. 9.

Esperimento III. — Cane del peso di kg. 7 innestato nella giugulare con 20 cmc. di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore dall'innesto	40°. 5
» 34 »	40°. 5
» 46 »	42°
» 53 »	41°. 5

Si uccide il cane dopo 53 ore. Diminuito in peso gr. 500.

Esame macroscopico della milza. — Milza alquanto tumida, con capsula distesa. Presenta un piccolo tumore sottocapsulare della grossezza di un pisello. Al taglio si ha forte stasi.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene del cane. Dopo 24-36 ore si ha sviluppo di colonie di carbonchio.

Si innestano tre cavie nel cellulare sottocutaneo addominale con piccoli pezzi di milza, di fegato, di rene del cane. Dopo 2 giorni muoiono le cavie innestate con milza e con rene. Dopo 3 giorni dall'innesto muore la cavia innestata con fegato. Le cavie muoiono tutte con forte edema gelatinoso della parete addominale. Dall'essudato gelatinoso delle cavie si fanno placche d'isolamento in gelatina, le quali dopo 48 ore danno abbondante sviluppo di tipiche colonie del bacillo del carbonchio.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Follicoli di volume normale. Polpa fortemente congesta. Le trabecole spleniche sono mal colorate dal carminio, e con inizio di degenerazione vitrea.

Forte ingrandimento: Rigonfiamento dell'endotelio delle arterie centrali dei follicoli. Gli elementi del follicolo sono in via di distruzione. Zone necrotiche esistono pure nella polpa. Enorme congestione della polpa ove esistono molti leucociti. Il reticolo è appariscente, ed in alcuni punti ha acquistato un carattere spiccatamente granuloso. Esiste nella polpa una certa quantità di pigmento sanguigno, irregolarmente disposto a piccole zolle.

Esperimento IV. — Cane del peso di kg. 9 innestato nella giugulare con 30 cmc. di cultura di carbonchio in brodo tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore dall'innesto	40°
» 48 »	40°. 5
» 72 »	40°

L'animale si uccide dopo 3 giorni. Diminuito in peso gr. 700.

Esame microscopico della milza. — Milza fortemente tumida, con capsula distesa, di colorito rosso-scuro. Al taglio si ha forte stasi

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene. Le culture danno dopo 24 ore sviluppo di colonie di bacillo del carbonchio.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli grossi, nei quali anche con ingrandimento debole si distinguono zone necrotiche. Trabecole spleniche di aspetto normale, però mal colorate al carminio litico. Polpa con elementi abbondantissimi.

Forte ingrandimento: Esiste nella polpa una stasi enorme. In alcuni punti si osservano necrosi granulose degli elementi della polpa. Anche nei follicoli esistono zone necrotiche, le quali si trovano nella periferia dei follicoli, mentre gli elementi cellulari del follicolo si trovano sempre più rispettati, quanto più ci approssimiamo al centro. L'arteria centrale si trova dilatata, con endotelio rigonfio ed in parte sfaldato. In alcuni follicoli sono quasi completamente distrutti tutti gli elementi, e si riconosce solo l'arteria. Il resto dell'antico follicolo è invaso completamente da una stasi fortissima.

Esperimento V. — Cane del peso di kg. 2.800, innestato nella giugulare con 10 cmc. di coltura di carbonchio in brodo tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore dall'innesto	. . . .	39°.5
» 48 »	. . . .	41°
» 72 »	. . . .	40°.7
» 96 »	. . . .	39°.5
» 120 »	. . . .	36°

Il cane muore spontaneamente alla sera del 5° giorno dall'innesto con forte ipotermia. Diminuito di peso di gr. 700.

Esame macroscopico della milza. — Milza fortemente aumentata di volume, con capsula tesa di colorito rosso fosco. Al taglio fuoriesce una grande quantità di sangue. Follicoli non appariscenti. La polpa esce con facilità dalle trabecole spleniche.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dalla milza che danno rapido sviluppo di carbonchio. Culture positive si hanno pure dal sangue, dal fegato, dal rene del cane.

Si innestano tre cavie nel cellulare sottocutaneo addominale, con piccoli frammenti di milza, di fegato, di rene del cane. Le cavie muoiono tra le 24 e le 48 ore, con edema fortissimo, gelatinoso, di tutta la parete addominale. Dall'edema gelatinoso delle cavie si fanno culture in placca. Dopo 24 ore sulle placche d'isolamento si ha sviluppo di numerose e caratteristiche colonie di bacillo del carbonchio.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Follicoli di volume molto diminuito. Polpa fortemente congesta. Trabecole mal colorate al litio carminio, in via di degenerazione.

Forte ingrandimento: Gli elementi del follicolo, mentre conservano la loro forma, si sono malamente colorati al carminio; il loro protoplasma è granuloso, amorfo, con tendenza alla disorganizzazione. Arteria centrale del follicolo con stasi. Endotelio dell'arteria in via di necrosi.

Polpa con reticolo molto appariscente, con leucociti abbondanti. Grande quantità di pigmento ematico, granuloso, giallastro, sotto forma di piccole zolle, amorfe, più o meno grandi, in cui si può sempre riconoscere la forma dei corpuscoli rossi in via di distruzione. Qua e là nella polpa, esistono veri infarti emorragici. Gli elementi endoteliali sono in via di necrosi. Le trabecole appaiono di aspetto vitreo, e gli spazi tra le fibre connettivali dello trabecole sono fortemente dilatati.

Esperimento VI. — Cane del peso di kg. 5, innestato nella giugulare con 15 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Primo giorno dall'innesto	. . . 40°	Sesto giorno dall'innesto	. . . 39°
Secondo »	. . . 39°.5	Settimo »	. . . 38°.5
Terzo »	. . . 40°	Ottavo »	. . . 38°.5
Quarto »	. . . 39°.5	Nono »	. . . 38°
Quinto »	. . . 39°	Decimo »	. . . 38°

Il cane viene ucciso dopo dieci giorni dall'innesto. Diminuito in peso gr. 900.

Esame macroscopico della milza. — Milza ingrandita di volume, con capsula tesa, lucente, di colorito fosco. Al taglio si ha forte stasi. I follicoli non sono appariscenti.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene del cane che danno tutte sviluppo tardivo e stentato di colonie di carbonchio.

Si innestano tre cavie nel tessuto cellularo sottocutaneo addominale, con piccoli pezzi di milza di fegato, di rene del cane ucciso. Dopo cinque giorni muore la cavia innestata con rene, e presenta forte edema della parete addominale. Dall'essudato si fanno preparati col

metodo di Gram, che rivelano la presenza del bacillo del carbonchio. Dall'essudato della cavia si fanno pure placche d'isolamento, che dopo 48 ore danno scarso sviluppo di colonie del carbonchio. Dopo 6 giorni muore la cavia innestata con fegato. Presenta edema della parete addominale. L'esame dell'essudato rivela la presenza del bacillo del carbonchio. Dalle placche d'isolamento si ha sviluppo di colonie del bacillo del carbonchio. Dopo nove giorni muore la cavia innestata con milza. Edema gelatinoso della parete addominale. Numerosi bacilli del carbonchio nell'essudato. Sviluppo di colonie di carbonchio dalle placche d'isolamento.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Non si possono rilevare lesioni degne di descrizione.

Forte ingrandimento: Gli elementi costituenti i follicoli sono piccoli, con protoplasma molto scarso con nucleo ben manifesto. L'arteria centrale di alcuni follicoli mostra uno sfaldamento endoteliale; in alcuni altri una forte proliferazione dell'endotelio, fino a costituire una vera trombosi. Nella polpa il reticolo è molto appariscente. Leucociti abbondanti, piccoli, simili a quelli dei follicoli. In alcuni punti della polpa le cellule endoteliali hanno un aspetto leggermente fusato. Cellule giganti in discreto numero, alcune delle quali in attiva cariocinesi. Pigmento sanguigno quasi completamente mancante.

ESPERIMENTO VII. — Cane del peso di kg. 6 innestato nella giugulare con 16 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore dall'innesto . . . 40°	Dopo 6 giorni dall'innesto . . 39°
» 2 giorni » . . . 40°.5	» 7 » » . . 39°.5
» 3 » » . . . 40°	» 8 » » . . 39°
» 4 » » . . . 41°	» 9 » » . . 39°
» 5 » » . . . 41°	» 10 » » . . 38°.5

L'animale viene ucciso dopo dieci giorni dall'innesto. Diminuito in peso di grammi 1200.

Esame macroscopico della milza. — Milza tumida, con capsula distesa. Al taglio si ha forte stasi; non si vede alcuna iperplasia follicolare.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene del cane. Non si ha nelle gelatine sviluppo di culture. Con piccoli frammenti di milza, di fegato, e di rene del cane, si innestano tre cavie nel cellulare sottocutaneo addominale. Dopo quattro giorni muore la cavia innestata con fegato. Presenta edema forte gelatinoso, della parete addominale. Dall'essudato si fanno placche di isolamento che non danno sviluppo alcuno. Al settimo giorno dall'innesto muoiono, quasi contemporaneamente le due cavie innestate con milza e rene. Presentano esse pure edema intenso della parete addominale. Le culture su placche fatte dall'edema delle cavie non danno sviluppo di colonie del carbonchio.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Follicoli molto scarsi. Polpa con elementi scarsissimi; le trabecole sono molto appariscenti, ma non ispessite.

Forte ingrandimento: Reticolo molto sviluppato ed evidente. Non esiste nella polpa pigmento sanguigno. La polpa ha acquistato, per la disposizione degli elementi cellulari, l'aspetto di un tessuto connettivo lasso, quasi mixomatoso; però la sostanza intercellulare è costituita da un detrito granuloso, proveniente dalla necrosi degli elementi mobili della stessa polpa splenica. Nelle maglie della polpa si contiene un detritus di aspetto granulare. In mezzo alla polpa stessa, di tratto in tratto, ma in numero molto scarso, compariscono delle speciali neoformazioni. Studiando una di tali neoformazioni, si vede che essa è completamente separata dal resto della polpa. Tra questo tessuto e la polpa esiste uno spazio che circonda completamente questa neoformazione, ed in cui sono contenuti pochi elementi di aspetto linfoide. In un punto circoscritto però, questo tessuto di neoformazione si continua col resto della polpa, per mezzo di una serie di cellule fusate. Il tessuto stesso è costituito da cellule fusate, variamente disposte fra di loro e contenenti una sostanza

intercellulare, oltre ad elementi di aspetto linfoide. Tutta questa neoproduzione è circondata esclusivamente da cellule endoteliali fusate, come ancora la parte opposta della polpa che limita lo spazio è ugualmente circondata da cellule endoteliali fusate.

Esperimento VIII. — Cane del peso di kg. 7.300: si inietta nella vena giugulare con 24 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuto per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 1 giorno dall'iniezione	39°.5	Dopo 5 giorni dall'iniezione	38°
» 2 » »	40°.5	» 6 » »	38°
» 3 » »	41°	» 7 » »	37°.5
» 4 » »	39°.5	» 8 » »	38°

All'ottavo giorno dall'iniezione si cessa di prendere la temperatura, essendo questa completamente ritornata normale.

Si uccide il cane dopo quindici giorni dall'iniezione; diminuito in peso di grammi 600.

Esame macroscopico della milza del cane. — Milza leggermente tumida, di colorito roseo, con discreta quantità di sangue al taglio. Capsula distesa di colorito roseo.

Ricerca micologica. — Si fanno innesti per infissione in gelatina, dalla milza, dal fegato, dal rene e dal sangue dell'animale. I tubi di cultura rimangono completamente sterili. Si innestano tre cavie nel cellulare sottocutaneo addominale, con piccoli pezzi di milza, di fegato, di rene del cane. Dopo sei giorni muore la cavia innestata con rene. Presenta edema della parete addominale. Dall'edema si fanno preparati microscopici, che non rivelano la presenza di alcun microrganismo. Si fanno dall'edema stesso culture su placca in gelatina le quali rimangono completamente sterili. Dopo 8 giorni muore la cavia innestata con milza del cane e dopo 12 giorni la cavia innestata con fegato guarisce completamente dopo aver presentato forte edema della parete addominale. Le placche fatte dall'edema della cavia innestata con milza riescono completamente sterili. La ricerca microscopica non rivela nell'essudato la presenza di alcun microrganismo.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli mancanti. Trabecole molto manifeste. Polpa con scarsissimi elementi.

Forte ingrandimento: Polpa con elementi cellulari scarsissimi. Leucociti scarsi, piccoli, con nucleo evidente, con protoplasma scarso. Reticolo molto appariscente. Tra le maglie del reticolo, in alcuni punti, esiste un detritus di aspetto granulare. Nei punti nodali delle maglie del reticolo stesso, scarse cellule endoteliali, di aspetto normale. In complesso la polpa splenica ha preso l'aspetto di un tessuto di connettivo lasso, mixomatoso, come nel precedente esperimento. A brevi intervalli, nella polpa stessa si osservano speciali neoformazioni, che si mostrano ben delineate e separate dal resto della polpa. Tali neoformazioni sono circondate da cellule endoteliali fusate, e in mezzo ad esse si notano piccoli leucociti, come leucociti pure si osservano alla periferia, nello spazio tra le cellule endoteliali e il resto della polpa. Altre cellule endoteliali, pure di aspetto fusato, esistono attraverso a questa neoformazione. Al centro esiste un piccolo vaso internamente rivestito da endotelio, e con leucociti nel suo lume.

La neoformazione descritta, lateralmente si continua col resto della polpa, per una serie di cellule endoteliali.

Esperimento IX. — Cane del peso di kg. 14, innestato nella giugulare con 28 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperature del cane:

Dopo 15 ore dall'innesto	39°.5	Dopo 6 giorni dall'innesto	38°.5
» 2 giorni »	39°	» 7 » »	38°.5
» 3 » »	40°	» 8 » »	38°
» 4 » »	39°.5	» 9 » »	38°.5
» 5 » »	39°	» 10 » »	38°

Si uccide il cane dopo 16 giorni dall'innesto. La temperatura è completamente ritornata allo stato normale. Si ha una diminuzione di peso di kg. 2.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene del cane. Le culture tutte, rimangono completamente sterili. Si innestano tre cavie con piccoli pezzi di milza, di fegato, di rene del cane nel cellulare sottocutaneo addominale. La cavia innestata con milza, muore dopo sei giorni, con un forte edema della parete addominale. Le placche fatte dall'edema rimangono completamente sterili. Dopo sette giorni, muore la cavia innestata con fegato; presenta essa pure forte edema della parete addominale, da cui si fanno placche d'isolamento che rimangono completamente sterili. La cavia innestata con rene dopo due giorni presenta discreto edema gelatinoso intorno al luogo d'innesto: dopo quattro giorni dall'innesto l'edema è aumentato, ed ha invaso tutta la parete addominale. Al sesto giorno l'edema diminuisce, fino a scomparire completamente al decimo. La cavia è ritornata in condizioni normali.

Esame macroscopico della milza. — Milza di volume normale, con capsula liscia. Al taglio il tessuto splenico si mostra di colorito roseo, fortemente iperemico.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Residuo degli antichi follicoli. Polpa con piccole neoformazioni disseminate, che si differenziano bene dal resto del tessuto. Trabecole abbastanza evidenti.

Forte ingrandimento: Leucociti poco abbondanti nella polpa. Manca il pigmento sanguigno. Reticolo abbastanza evidente. La polpa in alcuni punti è costituita da grande quantità di cellule endoteliali giovani, di aspetto fusato, in modo da poterla, in certi punti specialmente, rassomigliare ad un tessuto sarcomatoso fusicellulare. Si vedono punti della polpa, in cui si trovano piccole neoproduzioni, ben differenziate dal resto della polpa per mezzo di uno spazio che le circonda. Queste neoformazioni in un punto sono in continuazione colla polpa. Esse sono formate da cellule endoteliali, e dal loro estremo mandano una serie di filamenti reticolati che si uniscono colla polpa.

Esperimento X. — Cane del peso di kg. 14 innestato nella giugulare con 40 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore dall'innesto . . .	39°.8	Dopo 8 giorni dall'innesto . .	39°.6
» 2 giorni » . . .	40°.9	» 10 » » . .	39°
» 4 » » . . .	41°	» 12 » » . .	28°.4
» 6 » » . . .	40°.2	» 14 » » . .	38°

Al quattordicesimo giorno dall'iniezione la temperatura si è completamente regolarizzata.

Si uccide l'animale dopo 18 giorni dall'innesto.

Diminuito in peso di gr. 1200.

Le cavie innestate con frammenti di organi del cane, tranne un leggiero edema nel luogo d'innesto, che scompare dopo 36-48 ore, non danno reazione alcuna. Le culture fatte dal sangue, dalla milza, dal fegato del cane, rimangono sterili.

La milza del cane si presenta di colorito roseo, iperemica, di volume normale.

L'esame del sangue dell'animale, eseguito al momento dell'uccisione, dà i seguenti resultati:

Sangue carotideo:	globuli rossi 4,464,000;	globuli bianchi 6,800
» splenico:	» 4,557,000;	» 6,200

Sangue splenico: Emoglobina 8.1.

Esperimento XI. — Cane del peso di kg. 16 innestato nella giugulare con 40 cmc. di cultura di carbonchio in brodo tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore dall'innesto . . .	40°.5	Dopo 8 giorni dall'innesto . .	39°.5
» 2 giorni » . . .	40°	» 9 » » . .	39°.5
» 3 » » . . .	40°.5	» 10 » » . .	38°.5
» 4 » » . . .	40°.5	» 11 » » . .	38°.5
» 5 » » . . .	39°	» 12 » » . .	38°
» 6 » » . . .	39°.5	» 13 » » . .	38°
» 7 » » . . .	39°	» 14 » » . .	38°

Si cessa di prendere la temperatura al quattordicesimo giorno essendo questa ritornata allo stato normale.

Si uccide il cane dopo ventun giorno dall'innesto. L'animale è diminuito in peso di kg. 3.

Esame macroscopico della milza. — Milza poco aumentata di volume, con capsula rugosa. Esistono alla sua superficie traccie di perisplenite di recente data. Al taglio si ha stasi, e un leggiero ispessimento delle trabecole spleniche.

Ricerca micologica. — Si fanno culture per infissione in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene del cane, le quali rimangono tutte completamente sterili.

Con piccoli frammenti di milza, di fegato e di rene del cane, si innestano tre cavie nel tessuto cellulare sottocutaneo addominale. Dopo trentasei ore, la cavia innestata con milza, presenta edema fortissimo intorno al luogo di innesto. L'edema consecutivamente va riducendosi, fino a scomparire quasi completamente al quinto giorno dall'innesto, e la cavia ritorna in condizioni normali. Le altre due cavie innestate con fegato e con rene presentano esse pure forte edema dopo 24-36 ore. L'edema in seguito si riduce, e scompare completamente all'ottavo giorno dall'innesto.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli scarsi e piccoli. Polpa costituita da scarsissimi elementi. Trabecole alquanto manifeste.

Forte ingrandimento: Arteria centrale del follicolo dilatata con endotelio integro. Follicoli costituiti da piccoli elementi linfoidi, con reticolo poco sviluppato. Si vedono in mezzo alla polpa le solite neoproduzioni, coi caratteri di quelle nei precedenti esperimenti descritte. La sostanza intercellulare è di aspetto fibrillare, ed in grande quantità; scarseggiano nella polpa stessa gli elementi leucocitici ed endoteliali. Tutte le trabecole della polpa sono costituite da un tessuto fibrillare. Mentre la polpa stessa presenta l'aspetto fibrillare sopra descritto lontano dai follicoli, in prossimità di questi si va man mano popolando di elementi linfoidi. Spiccano molto bene nella polpa le pareti vasali.

Esperimento XII. — Cane del peso di kg. 4, innestato nella giugulare con 12 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo 24 ore	dall'innesto. .	40°	Dopo	7 giorni	dall'innesto. .	39°.5
» 2 giorni	» . .	40°.5	»	8 »	» . .	39°
» 3 »	» . .	40°	»	9 »	» . .	38°
» 4 »	» . .	41°	»	10 »	» . .	38°.5
» 5 »	» . .	40°.5	»	11 »	» . .	38°
» 6 »	» . .	39°.5	»	12 »	» . .	38°

La temperatura al dodicesimo giorno dall'iniezione si è completamente regolarizzata. Il cane viene ucciso dopo 28 giorni dall'innesto.

Diminuito in peso gr. 600.

Esame macroscopico della milza. — Milza di volume normale con capsula liscia. Al taglio si trova il parenchima splenico di colorito roseo. Stasi.

Ricerca micologica. — Le culture in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato e dal rene del cane, rimangono sterili. Le cavie innestate con frammenti di organi nel cellulare sottocutaneo addominale, danno i seguenti risultati:

1° Cavia innestata con milza: Discreto edema intorno al luogo d'innesto, dopo 36 ore. L'edema va gradatamente diminuendo fino a scomparire dopo 84 ore.

2° Cavia innestata con rene: Forte edema di tutta la parete addominale, dopo 24 ore. L'edema dopo 48 ore accenna a diminuire. Al 4° giorno dall'innesto l'edema è completamente scomparso, e non resta che un leggiero infiltramento attorno al piccolo frammento di milza innestato.

3° Cavia innestata con fegato. Discreto edema dopo 24 ore. Dopo 2 giorni l'edema è completamente scomparso, e la cavia ritorna nel suo stato normale.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Follicoli piccoli; polpa con elementi scarsi, trabecole di aspetto normale.

Forte ingrandimento: Vecchi follicoli con arteria centrale dilatata. Polpa con reticolo poco appariscente. Scarsissimo pigmento ematico. Leucociti scarsi. Rare cellule giganti nella polpa. La polpa si presenta di aspetto sarcomatoso, con cellule endoteliali di aspetto fusato;

nei vasi della polpa è contenuta una grande quantità di sangue. Numerosi follicoli di neoformazione; i follicoli sono costituiti da piccoli elementi endoteliali in mezzo a cui non si vede il reticolo.

L'endotelio dei vasi dei piccoli follicoli è ben manifesto ma non presenta nulla di speciale.

Esperimento XIII. — Cane del peso di kg. 5, innestato nella giugulare con 15 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Temperatura del cane:

Dopo	24 ore	dall'innesto. .	39°.5	Dopo	6 giorni	dall'innesto. .	39°.5
»	2 giorni	» . .	40°	»	7 »	» . .	38°.5
»	3 »	» . .	40°.5	»	8 »	» . .	38°.5
»	4 »	» . .	39°.5	»	9 »	» . .	38°
»	5 »	» . .	39°	»	10 »	» . .	38°

Si cessa di prendere la temperatura al decimo giorno dall'iniezione, perchè ritornata completamente normale.

Il cane viene ucciso dopo 42 giorni dall'iniezione. Il cane ha riacquistato il primitivo peso.

Ricerca micologica. — Si fanno infissioni in gelatina dal sangue, dalla milza, dal fegato, dal rene del cane. Le culture rimangono tutte quante sterili. Si innestano tre cavie con piccoli frammenti di milza, di fegato, di rene del cane; le cavie tranne un leggerissimo edema in prossimità del luogo d'innesto, non risentono niente di notevole dall'innesto.

Esame macroscopico della milza del cane. — Milza piuttosto piccola, con capsula rugosa. Al taglio si mostra di aspetto carneo, fortemente iperemica.

Esame istologico. — Piccolo ingrandimento: Follicoli scarsi e grossi di volume; polpa con scarsi elementi. Trabecole allo stato normale.

Forte ingrandimento: Scarse cellule giganti disseminate nella polpa. Reticolo appariscente, leucociti abbondantissimi nei follicoli. La polpa presenta uno stadio fibrillare, molto simile a quello riscontrato nel 10° esperimento; la polpa per quanto non ancora formata, è in uno stadio di formazione molto più avanzata. Qua e là si osservano scarse forme iniziali di follicoli.

Esperimento XIV. — Cane del peso di kg. 5, innestato nella giugulare con 15 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Come nei precedenti esperimenti, nei primi giorni dopo l'innesto si ha forte ipertermia, con deperimento ed emaciazione dell'animale. Dopo circa 12 giorni dall'innesto la temperatura si regolarizza, e l'animale migliora nelle condizioni generali. Dopo un mese e mezzo dall'iniezione si uccide l'animale, il quale è aumentato di peso di grammi 250, in rispetto al peso primitivo. Si fanno culture per infissione in gelatina come negli esperimenti precedenti, le quali rimangono sterili.

Le cavie innestate con frammenti di milza, di fegato, di rene del cane, non danno alcuna reazione, tranne un leggerissimo infiltramento attorno al luogo d'innesto.

Esame macroscopico della milza del cane. — Milza di volume normale, con capsula ispessita, con superficie leggermente rugosa. Al taglio le trabecole spleniche si mostrano alquanto ispessite; polpa di colorito roseo, con poca quantità di sangue. Follicoli alquanto appariscenti.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Follicoli numerosi, di differenti dimensioni, che spiccano molto nettamente sul resto della polpa. Trabecole normali.

Forte ingrandimento: Scarsissimo pigmento sanguigno. Leucociti poco abbondanti nella polpa; cellule endoteliali di aspetto fusato; leggiero grado di splenite interstiziale. Discreto numero di cellule giganti. Gli elementi endoteliali fusati danno alla polpa un aspetto sarco-

matoso, in mezzo a cui si vedono scarsi leucociti. Non compaiono se non rarissimamente isole di nuove formazioni follicolari.

Esame del sangue carotideo: Globuli rossi, 4,495,000; globuli bianchi, 7,500.
» splenico: » 5,177,000; » 12,400.

Sangue splenico: Emoglobina 8. 9.

Esperimento XV. — Cane del peso di kg. 5. 700, innestato nella giugulare con 16 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Forte reazione febbrile dell'animale, nei primi giorni dopo l'innesto. Abbattimento, diminuzione di peso. Circa al 15° giorno dall'iniezione, le condizioni generali dell'animale migliorano.

Si uccide dopo due mesi dall'innesto. Peso aumentato di gr. 300 rispetto al primitivo peso.

Esame macroscopico della milza. — Milza di volume normale. Al taglio il parenchima splenico si presenta di aspetto carneo, iperemico. Follicoli molto evidenti.

Si innestano tre cavie con piccoli frammenti di organi del cane. Le cavie non risentono affatto dell'innesto.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli di differente grandezza, con arteria centrale alquanto dilatata. Trabecole spleniche normali.

Forte ingrandimento: Elementi della polpa fusati, di aspetto giovane. Reticolo poco appariscente. Pigmento sanguigno scarsissimo. Leucociti poco abbondanti nella polpa; molto numerosi nei follicoli. Numerosissimi piccoli follicoli disseminati, di neoformazione. Il follicolo giovane è costituito da cellule endoteliali, in mezzo a cui esistono piccoli leucociti. Ogni follicolo porta intorno a sè un piccolo spazio, che lo delimita nettamente dal resto della polpa. In questo spazio esistono scarsi leucociti.

Esame del sangue carotideo: Globuli rossi, 5,200,000; globuli bianchi, 6,200.
» splenico: » 5,150,000; » 7,750.

Sangue splenico: Emoglobina 9. 2.

Esperimento XVI. — Cane del peso di kg. 6. 500, innestato nella giugulare con 20 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°. Nei primi giorni dopo l'innesto, si ha forte elevazione di temperatura, e diminuzione di peso. Gradatamente le condizioni generali migliorano, e dopo un mese circa dall'innesto l'animale è ritornato nel suo stato normale. Si uccide dopo due mesi e mezzo. Il peso dell'animale è aumentato di gr. 500.

Esame macroscopico della milza. — Milza di volume normale, con capsula leggermente ispessita. Al taglio si ha leggiera iperplasia dei follicoli; polpa di colorito rosso. Forte iperemia. Si innestano tre cavie con piccoli frammenti di organi del cane, nel cellulare sottocutaneo addominale; le cavie rimangono completamente indifferenti all'innesto.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento. Numerosi follicoli, di varie dimensioni; alcuni molto grossi, altri molto piccoli. Trabecole di aspetto normale.

Forte ingrandimento: Numerosi piccoli follicoli giovani in via di formazione. Elementi della polpa di aspetto fusato; leucociti poco abbondanti nella polpa stessa; tracce di pigmento sanguigno. Reticolo molto appariscente. I piccoli follicoli di aspetto giovane cominciano a infiltrarsi di leucociti. Lo spazio circolare tra il follicolo e il resto della polpa, è diminuito molto, per il depositarsi dei leucociti attorno al giovine follicolo e per il conseguente ingrandirsi del follicolo stesso.

Esame del sangue carotideo: Globuli rossi, 6,600,000; globuli bianchi, 9,300.
» splenico: » 7,400,000; » 9,300.

Sangue splenico: Emoglobina 10. 7.

Esperimento XVII. — Cagna di kg. 4. 500, innestata nella giugulare con 15 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°. Nei primi giorni dopo l'iniezione si ha forte elevazione termica ed abbattimento dell'animale. Gradatamente le condizioni

generali dell'animale migliorano, ed al trentesimo giorno si mostra completamente guarito. Si uccide dopo mesi due e giorni 17. L'animale è aumentato in peso in gm. 200.

Esame microscopico della milza. — Milza di volume normale, con tracce di perisplenite alla sua superficie. Al taglio il parenchima splenico si mostra di colorito intensamente roseo. Follicoli poco appariscenti. Stasi.

Con piccoli frammenti di milza, di fegato, di rene del cane, si innestano tre cavie nel cellulare sottocutaneo addominale. Le cavie non danno alcuna reazione all'innesto.

Esame istologico della milza del cane. — Piccolo ingrandimento: Follicoli numerosi, di dimensioni varie. Trabecole alquanto ispessite.

Forte ingrandimento: Leucociti abbondanti nella polpa. Manca il pigmento ematico. Reticolo poco visibile, cellule endoteliali fusate, di aspetto giovane. Tanto la polpa che i follicoli sono ritornati al loro stato normale. Il numero dei giovani follicoli di neoformazione è scarsissimo.

Esame del sangue carotideo:	globuli rossi 5,735,000;	globuli bianchi	7,200
» splenico:	» 5,766,000;	»	7,200

Sangue splenico: Emoglobina 9. 2.

Esperimento XVIII. — Cane del peso di kg. 5. 200, innestato nella giugulare con 15 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°. Elevazione termica dopo l'innesto. Dimagramento e abbattimento dell'animale. Al 25° giorno dall'iniezione le condizioni dell'animale sono ritornate allo stato normale. Si uccide dopo quattro mesi. Aumentato di peso di gm. 800 rispetto al primitivo peso.

Esame macroscopico della milza. — Milza di volume normale, con capsula distesa, rosea. Al taglio si ha stasi, e iperplasia follicolare. Trabecole leggermente ispessite.

Le cavie innestate con organi dell'animale, non danno alcuna reazione all'innesto.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Leggero grado di splenite interstiziale. Numerosi grossi follicoli allo stato adulto. Arteria centrale dei follicoli normale.

Forte ingrandimento: Leucociti abbondantissimi nella polpa; scarse cellule giganti nella polpa stessa. Manca il pigmento sanguigno. Reticolo di aspetto normale. La milza è ritornata al suo stato completamente normale. Solo qua e là gli elementi endoteliali nella polpa conservano ancora in qualche punto l'aspetto fusato.

Esame del sangue carotideo:	globuli rossi 6,014,000;	globuli bianchi	7,700
» splenico:	» 6,820,000;	»	12,400

Sangue splenico: Esame dell'emoglobina 9. 5.

Esperimento XIX. — Cane del peso di kg. 8, innestato nella giugulare con 25 cmc. di cultura di carbonchio in brodo, tenuta per 24 ore a 37°.

Si ha forte ipertermia nei primi giorni dopo l'innesto, e dimagramento notevole dell'animale.

Dopo circa quaranta giorni dall'innesto, l'animale comincia ad aumentare di peso, e dopo due mesi si mostra completamente guarito dall'infezione.

Si uccide dopo 5 mesi dall'innesto.

Le cavie innestate con frammenti di organi del cane, nel cellulare sottocutaneo addominale, non danno alcuna reazione all'innesto.

La milza si presenta di volume normale, ed al taglio iperemica.

L'esame del sangue dà i risultati seguenti:

Esame del sangue carotideo:	globuli rossi 5,735,000;	globuli bianchi	7,200
» splenico:	» 5,890,000;	»	8,500

Dosaggio dell'emoglobina nel sangue splenico: 9. 4.

ESPERIMENTI SUI CONIGLI.

Esperimento I. — Coniglio innestato nella giugulare con 5 cmc. di cultura di tifo in brodo attenuata.

Temperatura dell'animale dopo 24 ore dall' innesto 39°5. Dopo 24 ore si uccide il coniglio.

Esame macroscopico della milza. — Milza tumida, di colorito bluastro. Capsula fortemente distesa. Al taglio si ha stasi.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli di aspetto normale. Trabecole poco appariscenti.

Forte ingrandimento: Follicoli fortemente infiltrati di piccoli leucociti. Arteria centrale dei follicoli alquanto dilatata, con endotelio integro. Polpa con scarso pigmento sanguigno. Reticolo in alcuni punti molto appariscente. Congestione nella polpa fortissima, tanto che in alcuni punti le colonne midollari della milza sono assottigliate per effetto della stasi. Elementi figurati del sangue ben conservati.

Esame del sangue carotideo: globuli rossi 4,836,000; globuli bianchi 6200
» splenico: » 4,867,000; » 7400

Sangue splenico: Emoglobina 5.7.

Esperimento II. — Coniglio innestato nella giugulare con 6 cmc. di cultura di tifo in brodo attenuata.

Temperatura del coniglio dopo 24 ore dall'innesto . . . . 40°
» » 2 giorni dall'innesto . . . 40°
» » 3 » . . . 39°.5

Si uccide il coniglio dopo tre giorni. Diminuito in peso gm. 200.

Esame macroscopico della milza. — Milza fortemente tumida, di colorito rosso-scuro. Al taglio si ha forte stasi.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli grossi con arteria centrale dilatata. Nella polpa stasi.

Forte ingrandimento: Follicoli fortemente infiltrati di leucociti piccoli, con protoplasma scarso. Arteria centrale del follicolo dilatata con endotelio integro, però rigonfio. Scarso pigmento sanguigno nella polpa, disposto a piccole zolle. Reticolo della polpa discretamente appariscente. Nei vasi sanguigni grande accumulo di leucociti, con pochi corpuscoli rossi Nei follicoli, ma in modo molto iniziale, cominciano a manifestarsi dei punti necrotici.

Esame del sangue carotideo: globuli rossi 3,627,000; globuli bianchi 7,700
» splenico: » 3,286,000; » 10,400

Sangue splenico: Emoglobina 6.3.

Esperimento III. — Coniglio innestato nella giugulare con 7 cmc. di cultura di tifo in brodo attenuata.

Temperatura dell'animale:

Dopo 24 ore	39°	Dopo 5 giorni	39°
» 2 giorni	39°	» 6 »	38°.5
» 3 »	39°.5	» 7 »	38.
» 4 »	40°	» 8 »	38°.5

Si uccide il coniglio dopo 8 giorni. Diminuito in peso gm. 400.

Esame macroscopico della milza. — Milza poco aumentata di volume. Capsula leggermente rugosa. Al taglio forte congestione.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Alcuni follicoli sono ridotti di volume, altri relativamente ingranditi, e in ciascun follicolo si distinguono due zone: una centrale, l'altra periferica che sembrano costituite da elementi diversi. I cordoni midollari della polpa sono fortemente ridotti di volume, e nei vasi della polpa stessa si contiene una grande quantità di pigmento sanguigno.

Forte ingrandimento: Mentre le parti centrali dei follicoli sono costituite a preferenza da leucociti, in mezzo a cui si distingue il reticolo, la zona esterna è fatta a preferenza di cellule piccole fusate. Nei capillari e piccole vene della polpa si trova un accumulo di leucociti, in mezzo a cui esiste grande quantità di pigmento. I cordoni midollari della polpa risultano costituiti da pochi leucociti, e a preferenza da cellule di aspetto fusato.

Esame del sangue		globuli rossi		globuli bianchi
carotideo:	globuli rossi	4,371,000;	globuli bianchi	4600
» splenico:	»	4,340,000;	»	5000

Sangue splenico: Emoglobina 7. 2.

Esperimento IV. — Coniglio innestato nella giugulare con 5 cmc. di cultura attenuata di tifo in brodo.

All'8° giorno dall'iniezione la temperatura che aveva raggiunto i 40° si è completamente regolarizzata. Si uccide l'animale dopo 10 giorni. Diminuito in peso gm. 250.

Esame macroscopico della milza. — Milza leggermente tumida. Al taglio si ha stasi.

Esame istologico della milza. — Sì a piccolo che a forte ingrandimento si riscontrano gli stessi fatti dell'esperimento precedente.

Esame del sangue				
carotideo:	globuli rossi	4,526,000;	globuli bianchi	7700
» splenico:	»	4,557,000;	»	9200

Sangue splenico: Emoglobina 6. 5.

Esperimento V. — Coniglio innestato nella giugulare con 7 cmc. di cultura di tifo in brodo attenuata.

Nei primi giorni dopo l'innesto si ha forte elevazione termica. Dopo 10 giorni la temperatura è completamente ritornata allo stato normale.

Si uccide l'animale dopo 15 giorni. Diminuito in peso gr. 200.

Esame macroscopico della milza. — Milza leggermente ingrandita, con capsula distesa. Al taglio il tessuto splenico si mostra di colorito intensamente roseo, iperemico.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: I follicoli sono fortemente ingranditi. Esiste ancora nella polpa una discreta quantità di pigmento.

Forte ingrandimento: Tanto nella zona centrale che periferica dei follicoli, dove nei precedenti esperimenti si notavano cellule di aspetto fusato, si trova ora una infiltrazione linfoide. Nella polpa, anche i cordoni midollari si cominciano a infiltrare di leucociti. Gli spazi sanguigni sono diminuiti di volume. Abbondano sempre di più gli elementi linfoidi, nelle lacune vascolari. Non come negli esperimenti sui cani, ma in modo molto più modesto, si nota in questa milza la neoformazione di piccoli follicoli. Di tratto in tratto in mezzo ai vecchi follicoli, si vedono accumuli di giovani cellule endoteliali. Questi accumuli non si notano in tutti i follicoli, e non seguono una legge ben definita; alcuni si trovano al centro, altri alla periferia del follicolo.

Esame del sangue				
carotideo:	globuli rossi	4,154,000;	globuli bianchi	9,300
» splenico:	»	4,061,000;	»	10,200

Sangue splenico: Emoglobina 5. 9.

Esperimento VI. — Coniglio innestato nella giugulare con 6 cmc. di cultura di tifo in brodo attenuata: ipertermia nei primi giorni dopo l'innesto. Dopo 14 giorni la temperatura è ritornata completamente allo stato fisiologico.

Si uccide l'animale dopo un mese dall'iniezione. Aumento di peso gr. 150.

Esame macroscopico della milza dell'animale. — Milza di volume normale, di colorito roseo. Al taglio si ha stasi.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Non esiste traccia di pigmento sanguigno. Follicoli ingranditi. Polpa aumentata di volume.

Forte ingrandimento: Follicoli costituiti esclusivamente di piccoli leucociti, con scarsissimo protoplasma. Cordoni midollari infiltrati di leucociti, e con scarse cellule di aspetto fusato. Scarsi follicoli di neoformazione.

Esame del sangue					
Esame del sangue carotideo:	globuli rossi	4,619,000;	globuli bianchi	9,200
»	splenico:	»	4,681,000;	»	10,500

Sangue splenico: Emoglobina 7. 8.

Esperimento VII. — Coniglio innestato nella giugulare con 5 cmc. di cultura di tifo in brodo, attenuata.

Si ha forte elevazione termica nei primi giorni dopo l'innesto. Al decimo giorno dall'iniezione la temperatura è ritornata allo stato normale.

Si uccide l'animale dopo un mese e mezzo.

Aumentato di peso di grammi 200.

La milza al taglio si presenta di aspetto normale, con stasi.

All'esame istologico a piccolo ingrandimento si riscontrano i follicoli di aspetto normale. Nella polpa non esiste traccia di pigmento.

A forte ingrandimento: Non si osservano follicoli in via di formazione. I follicoli sono di aspetto normale, zaffati di piccoli leucociti a scarso protoplasma. Esiste leggiera congestione nei vasi della polpa. Il parenchima splenico si mostra a forte ingrandimento ritornato completamente allo stato normale.

Esame del sangue carotideo: globuli rossi 4,402,000; globuli bianchi 8,000
» splenico: » 4,464,000; » 9,200

Sangue splenico: Emoglobina 7. 4.

Esperimento VIII. — Coniglio innestato nella giugulare con 4 cmc. di cultura di tifo in brodo, attenuata.

L'animale viene ucciso dopo due mesi dall'iniezione.

Il peso è aumentato di grammi 80 dal peso riscontrato prima dell'iniezione.

La milza al taglio non presenta alcuna particolarità degna di nota.

All'esame istologico a piccolo ingrandimento, niente di notevole.

A forte ingrandimento il parenchima splenico si mostra, come nell'esperimento precedente, di aspetto normale.

Esame del sangue carotideo: globuli rossi 5,084,000; globuli bianchi 6,200
» splenico: » 5,115,000; » 7,500

Sangue splenico: Emoglobina 8. 2.

OSSERVAZIONI SULL'UOMO.

Caso I. — Milza di individuo giovane dell'età di anni 35. Non si è potuto sapere l'epoca dell'inizio della malattia. All'autopsia si riscontrano numerose ulcerazioni tifose delle placche del Peyer, specialmente in prossimità della bozza del cieco. Stratificazioni sanguigne su tutta la mucosa intestinale. Cuore flaccido. Reni con degerazione grassa. Pulmoni con ipostasi.

La milza si presenta tumida, con capsula distesa di colorito bluastro. Al taglio si ha stasi fortissima. La polpa fuoriesce con facilità dalle trabecole spleniche.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli in gran parte ridotti di volume, ed alcuni in via di distruzione. Scarsi elementi nella polpa.

Forte ingrandimento: Alcuni follicoli si trovano ancora ben rispettati, e si vedono costituiti da una grande quantità di piccoli leucociti, con scarso protoplasma, strettamente addossati gli uni agli altri; altri follicoli invece presentano i loro elementi cellulari in necrosi, e non è più possibile in questi follicoli distinguere il reticolo. Le tuniche delle arterie centrali dei follicoli si mostrano di aspetto vitreo. L'endotelio è rigonfio, ed in parte desquamato, è caduto nel lume dell'arteria. La polpa si trova fortemente infiltrata di sangue, con scarsi elementi endoteliali, e scarsi leucociti. Esiste tra i diversi elementi della polpa un detritus di aspetto granulare, pigmentato in giallo. Il reticolo della polpa non è ben distinto.

Caso II. — Milza di individuo giovane dell'età di anni 25. Non si è potuto sapere l'inizio della sua malattia. All'autopsia si trovano ulcerazioni tifose del tenue. Cuore atrofico degenerato in grasso. Reni con rigonfiamento torbido. La milza si presenta fortemente distesa e con stasi intensa.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli in via di distruzione. Arteria centrale in alcuni follicoli dilatata. Non esiste traccia di pigmento sanguigno nella polpa.

Forte ingrandimento: I follicoli si trovano completamente necrosati, e ridotti a detritus granulare. Zone necrotiche si riscontrano pure nella polpa ove molte cellule endoteliali sono in via di necrobiosi. Il reticolo in alcuni punti è molto appariscente, irregolare ed in via di trasformazione granulare. Nei vasi venosi della polpa si vedono di tratto in tratto piccole trombosi, e qua e là accumuli di leucociti in via di disfacimento. Esistono molte cellule globulifere; manca la colorazione ematica dei detritus della polpa e dei follicoli.

Caso III. — Milza di individuo tifoso giovane, morto dopo 20 giorni di malattia. Alla autopsia si riscontrarono ulcerazioni tifose diffuse nell'intestino tenue. Cuore flaccido, con degenerazione grassa. Reni con rigonfiamento torbido.

La milza è ingrandita di volume, di colorito rosso-fosco. Al taglio si ha forte stasi, e leggera iperplasia dei follicoli. La polpa fuoriesce con facilità delle trabecole spleniche.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli scarsi, di volume normale, con elementi cellulari.

Forte ingrandimento: Una serie di follicoli presentano i loro elementi in distruzione, le arterie centrali dei follicoli presentano il loro endotelio in parte sfaldato. Tutto il reticolo della polpa è scomparso, ed è trasformato in un detritus granulare. Leucociti abbondanti nella polpa. Diffusioni ematiche, fino a vere fasi emorragiche in certe zone. Non si riscontra alcun accenno a rigenerazione del parenchima splenico.

Caso IV. — Milza di individuo tifoso adulto (40 anni), morto dopo 30 giorni di malattia. All'autopsia si riscontrarono le placche del Peyer, alcune ulcerate, altre in via di cicatrizzazione. Cuore flaccido. Reni con degenerazione grassa. La milza è tumida con capsula distesa. Al taglio stasi e ipertrofia follicolare.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli piccoli, in gran parte ben conservati. Polpa con abbondanti elementi e scarso pigmento sanguigno.

Forte ingrandimento: Cominciano a comparire qua e là degli ammassi di cellule fusate nella polpa. Esiste nella polpa stessa forte congestione. In alcuni punti si vede neoformazione di piccoli follicolini. Molti vecchi follicoli sono ritornati al loro stato normale, ed hanno rifatto tutti i loro elementi. In alcuni dei vecchi follicoli esistono ancora alcuni focolai necrotici. Il reticolo non è ancora rigenerato, ma è sempre sotto forma di detritus granulare.

Caso V. — Milza di individuo di anni 25, guarito dall'infezione tifosa, e morto per paralisi cardiaca al 45° giorno dall'infezione. All'autopsia si riscontrarono le placche del Peyer con cicatrici di recente data. Cuore con degenerazione grassa. Reni con stasi.

La milza si presenta di volume normale, di colorito roseo. Al taglio si ha stasi e leggiera iperplasia dei follicoli.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli piccoli, che spiccano nettamente sulla polpa. Polpa con abbondanti elementi. Pigmento sanguigno scarsissimo. Trabecole normali.

Forte ingrandimento: Completa rigenerazione della polpa e dei follicoli. Scarsi follicoli, piccoli, in via di formazione. Arteria centrale dei follicoli con endotelio integro. Polpa con abbondanti cellule endoteliali fusate, ed abbondanti leucociti. Il reticolo non si riscontra più allo stato granuloso, ma è completamente rigenerato. Si ha congestione nella polpa. Raramente si riscontrano qua e là cellule giganti.

Caso VI. — Milza di uomo adulto morto dopo 50 giorni di malattia, per paralisi cardiaca post-tifica. All'autopsia si riscontrano sulle placche del Peyer cicatrici di recente data, per pregresse ulcerazioni tifose. Rene con degenerazione grassa. Cuore atrofico flaccido con carni degenerate.

La milza è di volume pressochè normale. Al taglio si ha stasi. I follicoli sono poco appariscenti.

Esame istologico della milza. — Piccolo ingrandimento: Follicoli piccoli, polpa con abbondanti elementi, e discreta quantità di pigmento sanguigno.

Forte ingrandimento: Follicoli costituiti da piccoli elementi linfoidi; arteria centrale del follicolo con endotelio rigonfio. La polpa è ricca di leucociti; il reticolo splenico è discretamente appariscente. In alcuni punti della polpa si vedono ammassi di cellule endoteliali fusiformi. Di tratto in tratto nella polpa stessa si vedono piccole neoformazioni costituite da cellule fusate e da leucociti, le quali portano al loro centro una piccola arteria da costituire forme iniziali di follicoli di neoformazione.

CONSIDERAZIONI.

Esaurita l'esposizione dei miei esperimenti eseguiti sui cani e sui conigli, e delle mie osservazioni eseguite sull'uomo, debbo ora fare ad essi seguire una serie di considerazioni, onde poter dare un'interpretazione il più possibilmente esatta, a tutti quei fatti che nelle mie ricerche ho avuto luogo di osservare. Innanzi però di venire alla discussione dei fatti da me osservati al reperto istologico delle milze dei cani, dei conigli, e dell'uomo, da cui si rilevano le diverse fasi che la milza attraversa per rigenerarsi dopo un'infezione, accennerò rapidamente al modo di comportarsi del bacillo del carbonchio nell'organismo del cane. Come appare dall'esposizione delle mie esperienze, io ho fatto per ciascun esperimento eseguito sul cane, culture in gelatina per infissione, dal sangue e dai diversi organi dell'animale, onde poter conoscere se il bacillo del carbonchio era ancora vivente nell'organismo all'epoca dell'uccisione dell'animale stesso. Ma se le culture in gelatina sviluppandosi mi dicevano che il bacillo era ancora vivente, non mi determinavano però il grado di attenuazione che esso aveva subito, nel suo passaggio attraverso ad un organismo all'infezione carbonchiosa poco favorevole, qual'è quello del cane. Feci allora ad una serie di cavie innesti di piccoli pezzi di organi di ciascun cane, nel cellulare sottocutaneo addominale, ed ho potuto avere in tal modo la prova diretta che il bacillo del carbonchio, innestato nel torrente della circolazione del cane, mantiene tutta la sua attività patogena fino a dieci giorni dopo l'innesto. Le cavie infatti innestate con organi di cani, come appare dai primi sei esperimenti, sono morte tutte quante a differenti pe-

riodi di tempo col caratteristico edema gelatinoso, ed i preparati fatti dall'essudato e trattati col metodo di Gram, mi hanno rivelato tipico il bacillo del carbonchio. Dall'essudato gelatinoso delle cavie ho fatto pure placche di isolamento in serie, le quali mi hanno dato sviluppo minore o maggiore di colonie a seconda del minore o maggior periodo di tempo che il cane era restato in vita dopo l'iniezione.

Nei susseguenti esperimenti ho continuato ad innestare alle cavie frammenti di organi di cani carbonchiosi, onde provare se mi era possibile rivelare accidentalmente la presenza del bacillo del carbonchio ancora virulento anche in cani da molto tempo innestati. In questi ulteriori innesti alle cavie, mi è occorso di notare casualmente un fatto che usciva fuori dalla linea generale dei miei esperimenti, e che io ho preso a studiare, onde poterne dare una possibile interpetrazione. Nell'esperimento 8° come nei precedenti, io ho innestato le cavie con milza, fegato, e rene del cane carbonchioso, per rivelare la presenza del bacillo del carbonchio, e saggiarne la virulenza. Ho infatti avuto nelle cavie lo sviluppo graduale di un tipico edema gelatinoso intorno al luogo d'innesto, e dopo sei giorni è morta la cavia innestata con rene. Dall'essudato ho fatto come nei precedenti esperimenti, preparati col metodo di Gram, e con sorpresa non ho pututo riscontrare al microscopio la presenza nei preparati stessi di alcun bacillo del carbonchio. Le placche d'isolamento fatte con ogni cautela dall'essudato della cavia, e mantenute per molti giorni alla temperatura di 22° sono rimaste completamente sterili. In capo ad 8 giorni, è morta la cavia innestata con milza del cane, presentando essa pure il solito caratteristico edema della parete addominale; tanto i preparati dall'essudato quanto le placche d'isolamento, mi danno come nel caso precedente resultato completamente negativo. La cavia innestata con fegato presenta nei primi giorni forte edema di tutta la parete addominale e forte abbattimento; consecutivamente l'edema diminuisce, fino a scomparire completamente dopo 12 giorni dall'innesto. Nell'esperimento 7° pure, le cavie innestate con organi di cane carbonchioso muoiono con edema gelatinoso, e la ricerca microscopica del bacillo del carbonchio, e le placche d'isolamento, danno risultati completamente negativi. Quale l'interpetrazione del fatto? Le culture precedentemente fatte dagli organi e dal sangue dei due cani innestati con carbonchio, erano rimaste completamente sterili. Le cavie dell'esperimento 8° innestate con rene e con milza del cane, dopo aver reagito fortemente all'innesto, come lo dimostra il forte edema gelatinoso, con tutti i caratteri dell'edema carbonchioso, sono morte, senza che fosse possibile rilevare coi mezzi che abbiamo a nostra disposizione, il bacillo del carbonchio nell'essudato. Negli organi dei cani innestati di recente con forti dosi di carbonchio, ed in cui si è avuta la completa distruzione del microbio, resta forse una sostanza fortemente tossica, prodotta e dalle secrezioni del microbio nella sua permanenza nell'organismo del cane, e dal consecutivo disfacimento del microbio stesso, capace di riprodurre nelle cavie un quadro clinicamente simile all'infezione carbonchiosa, e dare la morte degli animali per intossicazione generale? Noi sappiamo infatti come una serie di tossine, quali la tetanica, la difterica, e la carbonchiosa tra queste, determinino negli animali dei sintomi clinici e delle lesioni locali, non affatto

dissimili da quelle che siamo usi a riscontrare nelle rispettive infezioni tetanica, difterica, carbonchiosa. Ho allora, seguendo questo concetto, continuato ad innestare piccoli frammenti di organi dei cani di esperimento alle cavie, onde poter conoscere se nelle consecutive esperienze si verificasse quello da me osservato negli esperimenti 7° ed 8°.

Nell'esperimento 9° infatti, il cane è stato ucciso dopo 16 giorni dell'innesto; le culture fatte dal sangue e dagli organi del cane, restarono sterili; le cavie innestate con milza e fegato morirono prima dei dieci giorni dall'innesto, e le ricerche con placche d'isolamento e con preparati, riuscirono completamente negative per il bacillo del carbonchio. La cavia innestata con rene dopo aver presentato fortissimo edema gelatinoso della parete addominale guarisce completamente dopo 10 giorni dall'innesto. Questi fatti sono in completo accordo, con quelli da me osservati nel precedente esperimento. Nelle consecutive esperienze, come lo dimostrano i quadri precedentemente riportati, ho avuto sempre resultato negativo dalle culture fatte dagli organi dei cani, e le cavie innestate con tali organi hanno presentato forte edema gelatinoso della parete addominale. Ho quindi potuto riscontrare che anche quando manca nell'organismo nel cane innestato con carbonchio, il bacillo, persiste negli organi del cane stesso una sostanza tossica, capace di dare la morte alla cavia innestata con gli organi del cane. Ho pure constatato che quanto più ci allontaniamo dal momento dell'innesto di carbonchio nel cane, la sostanza tossica che permane negli organi dell'animale non è più capace di uccidere la cavia, ma dà luogo solo ad un edema più o meno forte che gradatamente va riducendosi. A periodi molto più lontani dall'iniezione di carbonchio nel cane, le cavie non risentono quasi affatto dell'innesto degli organi dell'animale, e dopo 42 giorni dall'iniezione nel cane (esperimento XII°) le cavie innestate con questi organi, non reagiscono che con un leggiero infiltramento intorno al luogo d'innesto. Ai fatti che ho osservato, io come già accennai, ho dato l'interpretazione che la morte delle cavie sia dovuta alla tossina carbonchiosa contenuta negli organi dei cani, e che man mano che il cane elimina tale tossina allontanandosi dal momento dell'iniezione, la reazione nelle cavie diminuisce fino a scomparire completamente. A questa mia interpetrazione, potrebbe venir mossa un'obiezione, alla quale con un'altra serie di esperienze io ho cercato di sottrarmi. Esistono nei tessuti animali fisiologici delle tossi albumine, delle basi analoghe agli alcaloidi vegetali, che provengono dallo sdoppiamento degli albuminoidi, e che riescono per l'organismo animale in maggiore o minor grado venefiche. L'edema e la morte delle cavie che io ho visto avvenire nei miei esperimenti, in seguito all'innesto di frammenti di organi di cane carbonchioso sono essi dovuti all'azione della tossina carbonchiosa contenuta negli organi innestati, o non piuttosto all'azione di quelle tossi albumine che si trovano in tutti i tessuti fisiologici? Questa l'obiezione che potrebbe essere mossa. Innanzi tutto nei miei esperimenti ho potuto notare che, come la reazione all'innesto era fortissima in quelle cavie innestate con organi di cani i quali di recente avevano subìto l'iniezione di carbonchio, tale reazione andava diminuendo fino a scomparire completamente, nelle cavie innestate con organi di cane guarito completamente dall'infezione carbonchiosa. Segno evidente questo che le lesioni

che nelle cavie si stabiliscono in seguito all'innesto, sono in diretto rapporto col prodotto tossico contenuto negli organi del cane, e che tali organi, ritornati al loro stato fisiologico non determinano nelle cavie, reazione alcuna.

Alcuni sperimentatori poi (Foà, Pellacani, ecc.), hanno potuto sperimentalmente provare che il succo del fegato, e della milza a preferenza, nello stato normale, iniettato negli animali, non produce di solito alcun inconveniente. Nondimeno io ho eseguito una serie di esperimenti di controllo per constatare gli effetti che provocano gli organi di animali sani, innestati ad altri animali. Ho ucciso un cane ben nutrito, giovane, sano, e ne ho tolti gli organi, usando come nei precedenti esperimenti tutte le cautele per mantenere gli organi stessi asettici. Con piccoli pezzi di rene, fegato, milza, della dimensione approssimativa di quelli che innestavo alle cavie nelle antecedenti esperienze, e del peso di circa due grammi, ho innestato sotto la cute dell'addome tre cavie, e con fili completamente sterili ho fatto la sutura della cute, ed applicata una medicatura al collodion. Le cavie non hanno risentito affatto dell'innesto, e dopo alcuni giorni, intorno al piccolo frammento di organo si è formato un tessuto di connettivo, che l'ha completamente incapsulato. Ad altre tre cavie ho innestato sotto la cute il succo di piccoli frammenti degli stessi organi di cani sani, per conoscere se tal succo determinasse reazione alcuna nello cavia. La tecnica seguìta in queste ultime mie esperienze, è stata la seguente: ho preso piccoli pezzi di organi del cane sano, della grandezza approssimativamente doppia di quelli che innestava alle cavie, tenendo conto che una gran parte, circa la metà del pezzo di organo costituito da lacinie, fibre di connettivo, ecc, non poteva venire iniettato. Ho finamente triturato in un mortaio sterile questi pezzi di organi, aggiungendovi pochi cmc. di acqua sterilizzata, ed ho fatto col succo di tali organi un liquido molto corpuscolato, di colorito rossastro; con una siringa Tursini, ho iniettato questo liquido nel cellulare sottocutaneo addominale di tre cavie nella proporzione di circa 5 cmc, per 500 gm. di peso dell'animale. Le cavie non hanno presentato reazione alcuna all'innesto. Le mie esperienze adunque mi dicono che l'edema gelatinoso, e la morte delle cavie, consecutivi all'innesto di organi di cani innestati con carbonchio, e nei quali il bacillo non era in alcun modo più dimostrabile, è evidentemente dovuta ad una sostanza fortemente tossica che permane negli organi dell'animale per un certo tempo anche dopo caduta l'infezione, e che va man mano eliminandosi, quanto più ci allontaniamo dall'inizio dell'infezione stessa. Come la patologia ha largamente dimostrato, la sostanza tossica permane per un tempo più o meno lungo nell'organismo, anche dopo esauritasi un'infezione, e viene ad essere lentamente eliminata per opera delle secrezioni. La permanenza nell'organismo di tale prodotto tossico, ci dà infatti la spiegazione di tutte quelle lesioni tardive, che siamo soliti riscontrare frequentemente in seguito ad un'infezione. Tutti infatti sappiamo quanto siano frequenti le lesioni tardive del sistema nervoso dopo un'infezione, quali le paralisi posttifiche, post-difteriche, e forse la tabe dorsale stessa spesso trae la sua patogenesi da pregresse intossicazioni. È noto pure quanto frequenti sieno le nefriti tardive in seguito a malattie infettive molteplici, ed a preferenza in seguito alla scarlattina, al morbillo, ecc., quanto frequenti le miocarditi segmentarie d'origine

puramente tossica, e che solo tardivamente si stabiliscono. Dimostrato che la sostanza tossica rimane per un tempo più o meno lungo nell'organismo dopo caduta un'infezione, qual'è l'organo in cui più lungamente tale tossina permane? Alcune esperienze e ricerche in proposito mi autorizzerebbero fin d'ora a venire ad alcune conclusioni su tale argomento; ma non avendo tali ricerche alcuna relazione col presente lavoro, mi riservo di farne l'oggetto di una futura pubblicazione.

Interpretato ora il processo patologico che si svolge nell'organismo del cane in seguito all'infezione carbonchiosa sotto il rapporto del bacillo e della tossina mi restava ad interpretare le lesioni che in seguito a tale infezione si riscontrano nella milza. Nelle infezioni su cui ho sperimentato ho notato che la milza attraversa fasi diverse a seconda del periodo dell'infezione in cui noi la esaminiamo. Il primo effetto dell'infezione carbonchiosa sulla milza dei cani, è nei primi periodi oltre che una congestione fortissima che giunge fino a vere e proprie emorragie, specialmente sotto-capsulari, la comparsa di zone necrotiche più o meno vaste, a preferenza localizzate nella polpa, là dove cioè è il luogo di elezione del bacillo del carbonchio. Oltre che nella polpa, zone necrotiche più o meno appariscenti si riscontrano pure nei follicoli, e specialmente nella loro porzione periferica, mentre la centrale spesso si trova quasi completamente rispettata. E ben si comprende, che in un infezione quale quella carbonchiosa, di cui il microbio vegeta nel sangue, le alterazioni maggiori che si riscontrano nella milza debbano trovarsi nella polpa, come quella dove il sistema capillare e lacunare è sviluppatissimo, e dove quindi il bacillo del carbonchio può trovare terreno facile di attecchimento. La degenerazione che si osserva nel follicolo è sempre secondaria, e prodotta in parte dall'azione del prodotto tossico del bacillo; in parte la necrosi peri follicolare è prodotta dalla topografia stessa, del bacillo del carbonchio nella milza. Osservando una milza carbonchiosa infatti, il bacillo si riscontra sempre in grande quantità nella polpa; in minor numero alla periferia del follicolo, ove provoca piccole trombosi bacillari, causa precipua delle necrosi circoscritte alla periferia del follicolo. Quasi mai si riscontra traccia dei bacilli del carbonchio nella porzione centrale del follicolo splenico.

L'alterazione quindi della milza nell'infezione carbonchiosa, si ha inizialmente nella polpa, e secondariamente nel follicolo. Negli stadi inizialissimi dell'infezione, come lo dimostra la ricerca istologica dei miei due primi esperimenti, non troviamo nella milza lesioni caratteristiche e profonde. Le lesioni profonde, classiche dell'infezione carbonchiosa le ho riscontrate nella milza di un cane (esperimento 4°) ucciso dopo tre giorni dall'iniezione nella giugulare, e nella milza di un cane morto (esperimento 5°) dopo 5 giorni dall'iniezione. In questi esperimenti, la ricerca batteriologica, mi ha dimostrato nella milza, la presenza di abbondantissimi bacilli. Nell'esperimento 6° la milza di un cane ucciso dopo dieci giorni dall'iniezione mi dimostrava non più le vaste necrosi da noi riscontrate nei precedenti esperimenti, ma zone piccole circoscritte di pigmento ematico in forma granulare, ed in alcuni punti, grande sfaldamento dell'endotelio dell'arteria centrale, che si mostrava in attiva proliferazione, di aspetto giovane.

Nella polpa si trovavano in discreto numero cellule giganti, alcune delle

quali in fase attivamente cariocinetica. Sono questi fatti da me riscontrati, l'inizio di una rigenerazione da parte del parenchima splenico? Innanzi tutto debbo notare che la ricerca micologica mi aveva dimostrato nelle culture fatte dalla milza scarsissimo e lento sviluppo del bacillo del carbonchio.

L'animale si trovava dunque sempre sotto l'infezione carbonchiosa, ma come ne era indice la bassa temperatura, il peso non fortemente diminuito, la scarsezza dei bacilli rilevata dalle culture fatte dagli organi, tale infezione era prossima a spegnersi completamente. Il prodotto tossico del bacillo del carbonchio ha determinato la degenerazione e il consecutivo sfaldamento dell'endotelio dell'arteria di alcuni follicoli, come le necrosi granulari circoscritte della polpa. La proliferazione dell'endotelio delle arterie in altri punti avvenuta, sta a mio avviso ad indicare lo stimolo portato sulle cellule endoteliali che hanno resistito alla necrosi, da una sostanza tossica sì, ma non più capace di determinare la mortificazione della cellula, ma la sua proliferazione. Identico significato ha a parer mio la presenza nella polpa di cellule giganti; esse non sono l'esponente di una cariocinesi cellulare che abbia per scopo la rigenerazione di un organo per bisogno fisiologico bensì una segmentazione nucleare per stimolo tossico; io credo che nel mio esperimento la presenza di cellule giganti non debba altrimenti interpetrarsi da quello che siamo soliti interpetrare la presenza della cellula gigante nel tubercolo, dovuta direttamente allo stimolo della tossina tubercolare sulla cellula. Il primo stadio di rigenerazione della milza dopo l'infezione carbonchiosa, che io ho potuto cogliere nel corso dei miei esperimenti, è quello riscontrato al reperto istologico della milza di un cane ucciso dopo 10 giorni (esperimento 7°). Come abbiamo visto, pure nel precedente esperimento, il cane carbonchioso era stato ucciso alla stessa epoca, dopo 10 giorni cioè, eppure non si riscontrava nella milza traccia di rigenerazione iniziale del parenchima splenico. E ben si comprende come anche in periodi uguali di decorso dell'infezione in differenti animali, possa esser differente lo stadio di distruzione o di rigenerazione che la milza attraversa, e ciò sia in relazione colla differente resistenza organica dell'animale, sia colla sua differente età. Nel corso dei miei esperimenti ho trovato infatti alcune volte, periodi di meno avanzata rigenerazione del parenchima splenico, corrispondere a periodi di tempo molto lontani dall'iniezione del carbonchio nell'animale, e viceversa stati di rigenerazione più avanzata, corrispondere a periodi quasi iniziali dell'infezione. Il primo stadio di rigenerazione del parenchima splenico dopo gravi lesioni in esso indovatesi al seguito di un'infezione, come già ho accennato, è stato da me riscontrato nell'esperimento 7°. La polpa splenica all'osservazione istologica, si mostra come tessuto di aspetto mixomatoso, costituita da maglie larghe, sottili, in differenti sensi incrociantisi, nei punti nodali delle quali si trovano scarse cellule endoteliali. In mezzo a tali maglie esiste un detritus di aspetto granulare, e scarsissimi leucociti. Le cellule endoteliali che si trovano nei punti nodali del reticolo, sono con questo in diretta relazione per mezzo di numerosi prolungamenti. Sia le cellule endoteliali, che il reticolo, sono di aspetto giovane, embrionale.

L'aspetto di tali cellule endoteliali, le quali ad un'esatta osservazione istologica si vedono in rapporto diretto coi filamenti del reticolo, mi conferma nella

idea già da altri autori emessa, FREY, KÖLLIKER, HIS, che cioè il reticolo sia diretta ed esclusiva filiazione delle cellule endoteliali della milza. Oltre che la polpa di aspetto mixomatoso, ho in questo mio caso trovate disseminate qua e là in mezzo alla polpa stessa, delle speciali neoformazioni ben differenziantisi dal resto della polpa, costituite da poche cellule endoteliali di aspetto fusato riunite da un sottilissimo stroma, e con scarsi leucociti nel mezzo. L'aspetto istologico della milza in questo esperimento, risponde completamente ad una rigenerazione che s'inizia nel suo parenchima, dopo l'infezione carbonchiosa. E tale rigenerazione si inizia seguendo leggi ben definite, che noi possiamo riscontrare studiando lo sviluppo embrionale della milza. La milza subisce la rigenerazione del suo parenchima, con un completo ritorno allo stadio embrionale. Lo stadio di aspetto mixomatoso che in alcuni dei miei esperimenti ho riscontrato, corrisponde, a parer mio, al primo stadio che si osserva nella genesi embrionale della milza. Sappiamo da molteplici ricerche da numerosi autori eseguite su larga scala in specie differentissime di animali, ed a cui io già sommariamente accennai, come inizialmente la milza non si presenti che come un ispessimento del mesenchima, costituito da scarse cellule di aspetto stellato, che si anastomizzano tra di loro per mezzo dei loro prolungamenti, i quali vengono a costituire una serie di maglie, in mezzo alle quali sono contenuti numerosi elementi rotondi. Lo stadio di aspetto mixomatoso in vari casi da me riscontrato nei miei esperimenti, corrisponde esattamente al primo stadio di formazione embrionale della milza. Le cellule stellate tra loro anastomizzantisi per mezzo di numerosi prolungamenti, hanno significato identico delle cellule nodali, da me osservate nei miei esperimenti. Tali cellule non sono che giovani elementi endoteliali irregolarmente disposti in vari punti, e di cui i prolungamenti, intrecciantisi tra di loro, vanno a costituire il reticolo splenico. In mezzo a tali maglie cominciano a comparire degli elementi rotondi, i quali non sono che leucociti, e che moltiplicandosi di numero, insieme alle cellule endoteliali andranno a costituire la polpa splenica adulta. Lo stadio mixomatoso dunque, non è che il primo stadio di formazione embrionale, che la milza attraversa per giungere allo stato adulto; le cellule endoteliali nodali giovani, corrispondono a quelle varietà dal POUCHET studiate nell'embriogenesi della milza, e che egli chiamò *nuclei d'origine*.

Il secondo stadio che la milza attraversa per ritornare dopo un'infezione al suo stato normale, è quello che io per analogia chiamo *stadio di aspetto sarcomatoso*. Tale stadio è stato da me osservato a diversi periodi di tempo nei miei esperimenti, ora più ora meno accentuato, a seconda del periodo di tempo più o meno lungo, corso dall'iniezione di carbonchio nella giugulare degli animali, all'uccisione loro. Così ho potuto riscontrarlo nelle milze di cani uccisi dopo 16, 26, 45 giorni dall'innesto. L'aspetto che la polpa splenica presenta in questo secondo stadio, è quello che io, come ho detto per la sua rassomiglianza, chiamo sarcomatoso fusicellulare. Tale stadio è immediatamente consecutivo a quello mixomatoso, e come questo segue leggi embrionali fisse. Le scarse cellule endoteliali, stellate, osservate nello stadio mixomatoso si moltiplicano, e vengono a prendere l'aspetto fusato, che per quanto di cellula endoteliale giovane, dimostra

nondimeno uno stadio più adulto della cellula stessa. La polpa splenica viene in questo periodo ad essere costituita quasi esclusivamente da tante cellule endoteliali fusate, in certi punti strettamente addossate le une alle altre, e con un reticolo quasi completamente formato. In mezzo a queste cellule si trovano scarsi leucociti, i quali vanno gradatamente aumentando di numero, a misura che lo stadio di rigenerazione della polpa si trova in un periodo più avanzato.

Il 3° stadio che la polpa splenica attraversa per ritornare allo stato normale, è quello che io denomino *d'infiltramento linfoide.* Tale stadio è stato da me riscontrato nella milza di un cane ucciso dopo 2 mesi e 17 giorni dall'iniezione, e, più accentuato, nella milza di un cane ucciso dopo 4 mesi. In questo stadio, l'ultimo che la polpa attraversa per rigenerarsi completamente, le cellule endoteliali hanno perduto quasi completamente il loro aspetto giovane, fusato, e son divenute cellule endoteliali adulte. In pari tempo noi vediamo tra queste cellule endoteliali cominciare a depositarsi una grande quantità di piccoli leucociti, di recente formazione, con protoplasma scarso, i quali vanno a ripristinare completamente l'antica polpa distrutta. Da quali elementi abbiano origine questi giovani leucociti, se realmente si originino dai cosidetti *nuclei d'origine* del Pouchet della polpa splenica, è nel nostro argomento quistione di secondaria importanza. Esposti così i miei concetti sulla rigenerazione della polpa splenica al seguito di un' infezione, debbo ora studiare le diverse fasi che attraversa un'altra parte del parenchima splenico per rigenerarsi, *il follicolo.*

Fin dal decimo giorno dall'iniezione (esperimento 7°) studiando istologicamente una milza di cane, io ho potuto notare delle speciali neoformazioni, quasi completamente separate dal resto della polpa, eccetto che lateralmente, nel qual punto si continuano per una serie di sottili filamenti, e di cellule, colla polpa stessa. Inizialmente tali neoformazioni si mostrano costituite da scarse cellule endoteliali fusate, con una sostanza intercellulare, e scarsissimi elementi linfoidi.

È questo il primo stadio di formazione del nuovo follicolo. Se andiamo a studiare tali neoformazioni in un periodo più avanzato (dopo 28 giorni - esperimento 11°) noi vediamo distintamente al loro centro un piccolo vaso capillare, costituito da piccole cellule endoteliali, fortemente fusate. E questo è il secondo stadio della formazione del follicolo: il piccolo vaso capillare, a sviluppo completo, costituirà l'arteria centrale del follicolo. In un terzo stadio (Vedi fig 11) si vedono tali neoformazioni lentamente popolarsi di piccoli leucociti prima alla periferia, e consecutivamente al centro. Lo spazio esistente tra il follicolo iniziale e il resto della polpa, che io considero come uno spazio linfatico peri follicolare, va gradatamente diminuendo per il depositarsi in tale spazio di piccoli leucociti (esperimento XV° - Vedi fig. 11) i quali invadendo consecutivamente lo stroma del follicolo iniziale, vanno a porsi tra le cellule endoteliali e nelle maglie del reticolo proprio del follicolo, come io ho potuto osservare nelle milze di cani tenuti in vita due mesi e mezzo dopo l'iniezione.

L'ultimo stadio di rigenerazione del follicolo è costituito dal completo depositarsi di leucociti nel suo stroma (Esperimento XVII° dopo 4 mesi dall'iniezione) e dalla trasformazione delle piccole cellule endoteliali fusate che costituiscono il capillare centrale, in cellule endoteliali adulte, costituenti l'intima dell'arteria

centrale del follicolo. In questa mia serie di esperimenti, io ho visto sempre precedere lo stadio iniziale di rigenerazione nella polpa, e consecutivamente comparire le piccole neoformazioni follicolari. Questo fatto non si discosta per niente dalle leggi che governano lo sviluppo embrionale della milza, e che già ho avuto luogo di ricordare di frequente.

Sappiamo infatti come nello sviluppo embrionale della milza, il primo accenno alla formazione di quest'organo sia dato dal comparire di speciali cellule mesenchimali con lunghi prolungamenti, le quali andranno a costituire le cellule proprie della polpa splenica.

Non è che tardivamente che cominciano a comparire qua e là nella polpa, tra le cellule endoteliali, speciali accumuli di leucociti, ben dimostrabili e molto evidenti specialmente nei pesci nei quali costituiscono la *polpa bianca*, e che nell'uomo costituiscono il primo stadio di formazione del follicolo Malpighiano.

Queste le mie esperienze sui cani, per dimostrare il meccanismo di rigenerazione del parenchima splenico, in seguito alla distruzione sua, per effetto di un'infezione. La seconda serie delle mie esperienze è stata eseguita sui conigli, iniettando loro culture attenuate di tifo in brodo, nella giugulare, ed uccidendo poi gli animali a diversi periodi dell'infezione, onde studiarne istologicamente la milza.

Anche in questa seconda serie di ricerche, ho potuto osservare, per quanto meno manifesti, fatti identici a quelli da me osservati nei cani innestati con carbonchio.

Ho assistito alla distruzione del parenchima splenico per opera del bacillo del tifo, ed ai consecutivi stadi di rigenerazione, della polpa e del follicolo, per ritornare al loro stato normale. A questi diversi stadi non classici come quelli osservati nel cane, credo possa darsi l'identica interpretazione che a quelli osservati nel cane stesso.

Anche di questa seconda serie di esperienze io riproduco alcune figure, tolte dai miei preparati istologici. In una terza ed ultima serie di ricerche, ho infine messo a profitto il reperto istologico di alcune milze di individui morti di tifo, di cui ho avuto luogo di eseguire l' autopsia. Ben si comprende come lo studio della milza di tali individui sia stato per me di straordinaria importanza, poichè ho potuto studiare nell'uomo, diversi fatti da me sperimentalmente riprodotti nel cane e nel coniglio. Ho studiato la completa distruzione della milza (caso II) che si ha nel periodo ulcerativo dell'infezione tifosa. Nel caso IV (individuo con ulcerazioni intestinali guarite, morto poi per paralisi cardiaca) ho potuto notare nella milza speciali ammassi di cellule endoteliali fusate di aspetto giovane, completamente simili a quelle da me notate nelle milze di cani, in via di rigenerazione ed al quale stadio io ho dato il nome di sarcomatoso. Di tratto in tratto nella milza di tale individuo ho pure notato scarse neoformazioni follicolari (vedi figura) con una piccola arteria centrale, e costituite da giovani elementi endoteliali e da leucociti, aventi completa analogia morfologica, con le neoformazioni follicolari da me tanto frequentemente osservate nelle milze dei cani, e più raramente in quelle dei conigli. Infine nel caso VI ho potuto studiare la milza di un individuo guarito dal tifo, e morto dopo 45 giorni per paralisi

cardiaca da degenerazione cerea del miocardio. La milza (Vedi figura XX) è completamente rigenerata, e solo qua e là si trova ancora la polpa con cellule fusate, di aspetto sarcomatoso. La serie delle mie ricerche sull'uomo non ha potuto essere completa, non avendo avuto la possibilità di eseguire un tale numero di autopsie di individui morti a diversi periodi dell'infezione tifosa, da poter presentare una serie ininterrotta di osservazioni, e cogliere così tutti gli stadi che la milza dell'uomo attraversa nella sua rigenerazione. Questo ho fatto sui cani, e in più modeste proporzioni sui conigli; però per quanto scarsi sieno stati i casi sull'uomo, ho potuto constatare al reperto istologico, alcuni dei più importanti stadi completamente simili a quelli da me osservati nel corso delle mie esperienze sugli animali. Nelle esperienze sui cani ho ancora potuto determinare con precisione il momento in cui s'inizia la rigenerazione della milza. Come i primi miei esperimenti dimostrano, io non ho visto mai principio di rigenerazione, durante il periodo che nell'organismo del cane era ancora dimostrabile la presenza del bacillo del carbonchio. La rigenerazione comincia quando il bacillo è distrutto, tale rigenerazione è però inizialissima nei primi periodi quando l'esperiente sulle cavie mi dimostravano che nell'organismo del cane era ancora accumulata una quantità di sostanza tossica. La rigenerazione classica del parenchima splenico è stata da me riscontrata nei periodi in cui l'esperienza sulla cavia mi dimostrava la mancanza di sostanza tossica nell'animale. Concludendo posso dire che non s'inizia rigenerazione della milza fino a che persista il germe di un'infezione nell'organismo; che comincia anche quando piccole quantità di sostanza tossica persistono ancora nell'organismo stesso, che raggiunge il suo più classico stadio, quando anche il prodotto tossico è completamente eliminato dall'organismo.

Le ultime mie ricerche sono state quelle eseguite sull'ematopoiesi splenica, e sul dosaggio dell'emoglobina del sangue splenico. Gli apparecchi di cui mi sono servito per queste mie ultime ricerche sono stati il contaglobuli di Hayem-Nachet per l'esame della parte corpuscolare e l'emometro di Fleisch per il dosaggio dell'emoglobina. Nel corso delle mie osservazioni, ho potuto notare come la funzione ematopoietica fosse completamente abolita sì nei cani che nei conigli, nel periodo acuto delle infezioni carbonchiosa e tifica, quando nella milza si erano stabilite lesioni più o meno gravi in seguito alle infezioni.

L'abolizione della funzione ematopoietica mi veniva indicata dall'esame del sangue carotideo e dall'esame del sangue splenico. Il sangue splenico infatti non superava mai in ricchezza globulare il sangue arterioso. E noi sappiamo come la maggior parte degli autori abbiano potuto accertare la funzione ematopoietica della milza, coll'osservare costantemente la maggior ricchezza del sangue splenico in globuli rossi, rispetto al sangue del circolo generale.

Gradatamente ho visto ricomparire tale funzione ematopoietica, fino ad essere completamente ripristinata, a misura che nel parenchima splenico si andava svolgendo il processo di rinnovellamento cellulare, già da me studiato e discusso.

Ho potuto osservare la funzione ematopoietica completamente ritornata nei suoi limiti fisiologici negli esperimenti 16° e 17° nei cani, nei quali esperimenti il reperto istologico della milza mi aveva dimostrato la completa rigenerazione

del tessuto splenico. È col completo rinnovellamento degli elementi del parenchima splenico che coincide adunque il ritorno della sua più spiccata e meglio accertata funzione fisiologica, qual'è quella ematopoietica.

Gli esperimenti sui conigli pure mi hanno dimostrato (esperimento 4° e 6°) il ritorno della funzione ematopoietica della milza, corrispondente alla rigenerazione completa dell'organo.

L'ultima ricerca che ho eseguita sul sangue splenico, è stato il dosaggio dell'emoglobina. Ho potuto osservare come l'emoglobina diminuisce notevolmente nel sangue splenico di animali con le infezioni in atto. A misura che nell'organismo animale andava spegnendosi l'infezione, e che contemporaneamente si iniziava il processo di rigenerazione del parenchima splenico, il tasso dell'emoglobina è andato gradatamente aumentando. Così da 8.5 d'emoglobina, dose osservata nei primi esperimenti sui cani, quando l'infezione era ancora al suo inizio, ho potuto notare un graduale aumento fino a 9.2, 9.5 (esperimento 16 e 17 sui cani), tasso molto prossimo a quello da molti stabilito per il sangue del cane e che varia da 9.7 a 10.2. Similmente nei conigli dal tasso emoglobinico di 5.7 ottenuto nel 1° esperimento e da quello di 6 3 ottenuto nel 2° esperimento, osservato nei primi giorni dell'infezione tifosa, ho potuto in periodi molto lontani dall'inizio dell'infezione (dopo un mese, esperienza 6ª), osservare un tasso di 7. 8 d'emoglobina, quasi ritornato nei limiti fisiologici, stabiliti per questo animale dalla fisiologia, varianti tra il 7.5 e 9.5. A questo ritorno allo stato fisiologico della emoglobina e della parte corpuscolata del sangue corrispondeva un reperto istologico della milza dell'animale, di completa rigenerazione cellulare.

Dai risultati ottenuti nel corso di tutte queste mie esperienze vengo alle conclusioni seguenti:

I. Il bacillo del carbonchio nel cane, conserva fino al decimo giorno dall'innesto proprietà fortemente patogene.

II. Distrutto nel cane il bacillo del carbonchio, resta negli organi dell'animale una sostanza fortemente tossica, prodotta dal disfacimento del microbio, e dalle sue secrezioni, capace di uccidere una cavia, quando ad essa si innestino frammenti di organi del cane.

III. Tale prodotto tossico va lentamente eliminandosi dagli organi del cane, ed in periodi alquanto lontani dall'infezione, determina reazione caratteristica nella cavia, senza determinarne la morte. In periodi molto lontani dall'infezione gli organi del cane carbonchioso non hanno più il potere di uccidere le cavie col loro prodotto tossico, e dopo un mese e mezzo non determinano col loro innesto alla cavia, alcuna lesione nell'animale.

IV. Tale potere tossico degli organi dell'animale è dovuto alle tossine batteriche in essi contenute, e non già alle tossi-albumine che siamo soliti riscontrare negli organi di animali sani

V. La lunga permanenza nell'organismo animale di una sostanza tossica dopo esaurita un'infezione, ci spiega la patogenesi di molte malattie che si iniziano molto tempo dopo un'infezione, e di cui il più delle volte ci sfugge la causa determinante.

VI. La milza nel corso dell'infezione carbonchiosa o tifosa sia nell'uomo che negli animali, subisce una necrosi dei suoi elementi fissi e un alterazione necrobiotica del rispettivo reticolo, e degli elementi linfoidi nello stesso contenuti, a focolai, e tra le diversi parti della milza, la polpa e la periferia dei follicoli sono quelli più presi dal processo necrobiotico.

VII. La milza subisce una completa rigenerazione dei suoi elementi distrutti dal virus carbonchioso e tifico. Tale rigenerazione comincia prima nella polpa e poi nel follicolo. La rigenerazione si opera seguendo il meccanismo di formazione embrionale, che governa la genesi della milza.

VIII. La rigenerazione della polpa si fa attraverso a tre stadi che io chiamo 1° di aspetto mixomatoso, 2° di aspetto sarcomatoso fusicellare, 3° d'infiltramento linfoide.

IX. La rigenerazione del follicolo è posteriore a quella della polpa, e segue essa pure leggi embriogenetiche ben definite.

X. La rigenerazione della milza non si inizia quando in essa esiste ancora la presenza del bacillo.

XI. Si ha inizio di rigenerazione anche quando nella milza esiste una piccola quantità di prodotto tossico.

XII. La rigenerazione è classica, quanto tutto il prodotto tossico è eliminato dall'organismo.

XIII. Colla distruzione del parenchima splenico in seguito ad una infezione, si ha l'abolizione della funzione ematopoietica della milza, e la diminuzione dell'emoglobina del sangue splenico.

XIV. Colla graduale rigenerazione del parenchima splenico coincide il graduale ripristinamento della funzione ematopoietica, fino a giungere allo stato normale avvicinandosi, o meglio seguendo il parenchima splenico, le fasi ematopoietiche della milza embrionale.

XV. Col rigenerarsi del parenchima splenico, coincide l'aumento dell'emoglobina contenuta nel sangue splenico.

Ringrazio vivamente il prof. Maffucci mio maestro, il quale si è interessato a queste mie ricerche, con il suo autorevole consiglio.

20 ottobre 1899.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE.

Fig. 1. Milza di cane ucciso dopo 5 giorni dall'innesto:
a) zolle di pigmento ematico;
b) fasi emorragiche nella polpa per l'enorme congestione. Zeiss, ob. D, oc. 3.

Fig. 2. Milza di cane ucciso dopo 3 giorni dall'innesto:
a) arteria centrale del vecchio follicolo con endoarterite;
b) zona periferica del follicolo con necrosi granulare;
c) zona centrale del follicolo più rispettata dalla necrosi;
d) polpa in degenerazione granulare. Zeiss, ob. C, oc. 2.

Fig. 3. Milza di cane ucciso dopo 10 giorni dall'innesto:
a) trabecola;
b) polpa;
c) primo stadio del nuovo follicolo;
d) reticolo del follicolo di aspetto granulare. Zeiss, ob. D, oc. 3.

Fig. 4. Milza di cane ucciso dopo 15 giorni dall'innesto.
a) polpa con reticolo ridotto allo stato granulare;
b) capillare centrale di un nuovo follicolo, contenente leucociti;
c) follicoli di neoformazione allo stadio iniziale. Zeiss, ob. D, oc. 3.

Fig. 5. Milza di cane ucciso dopo 16 giorni dall'innesto.
a) spazio linfatico perifollicolare;
b) giovane follicolo quasi esclusivamente costituito da giovani cellule endoteliali fusate. Zeiss, ob. D, oc. 3.

Fig. 6. Milza di cane ucciso dopo 21 giorni dall'innesto:
a) detritus granulare;
b) piccolo capillare del nuovo follicolo. Zeiss, ob. D, oc. 3.

Fig. 7. Milza di cane ucciso dopo 21 giorni dall'innesto:
a) polpa allo stadio di aspetto mixomatoso;
b) stadio iniziale del nuovo follicolo con reticolo di aspetto granulare, e scarse cellule endoteliali;
c) spazio linfatico perifollicolare;
d) continuazione del follicolo colla polpa, per mezzo di un reticolo sottilissimo e di scarsi elementi. Zeiss, ob. D, oc. 3.

Fig. 8. Milza di cane ucciso dopo 10 giorni dall'innesto:
a) trasformazione granulare del reticolo;
b) Inizio del nuovo reticolo, formato direttamente dalle cellule endoteliali. Koristka, ob. 8, oc. 3.

Fig. 9. Milza di cane ucciso dopo 10 giorni dall'innesto:
a) cellula in cariocinesi;
b) cellula gigante;
c) reticolo in trasformazione granulare. Koristka, ob. immers. omog., oc. 3.

Fig. 10. Cane ucciso dopo mesi 2 1/2 dall'innesto:
a) polpa splenica costituita da giovani cellule endoteliali fusate, di aspetto sarcomatoso;
b) piccoli ammassi di leucociti nella polpa. Koristka, ob. 8, oc. 3.

Fig. 11. Cane ucciso dopo mesi 2 1/2 dall'innesto:
a) polpa e reticolo ritornati allo stato normale;
b) arteria centrale del nuovo follicolo;
c) reticolo del follicolo riformato completamente;
d) stadio d'infiltrazione leucocitica alla periferia del follicolo;
e) spazio linfatico perifollicolare, quasi completamente scomparso per il depositarsi degli elementi linfoidi. Zeiss, ob. D, oc. 2.

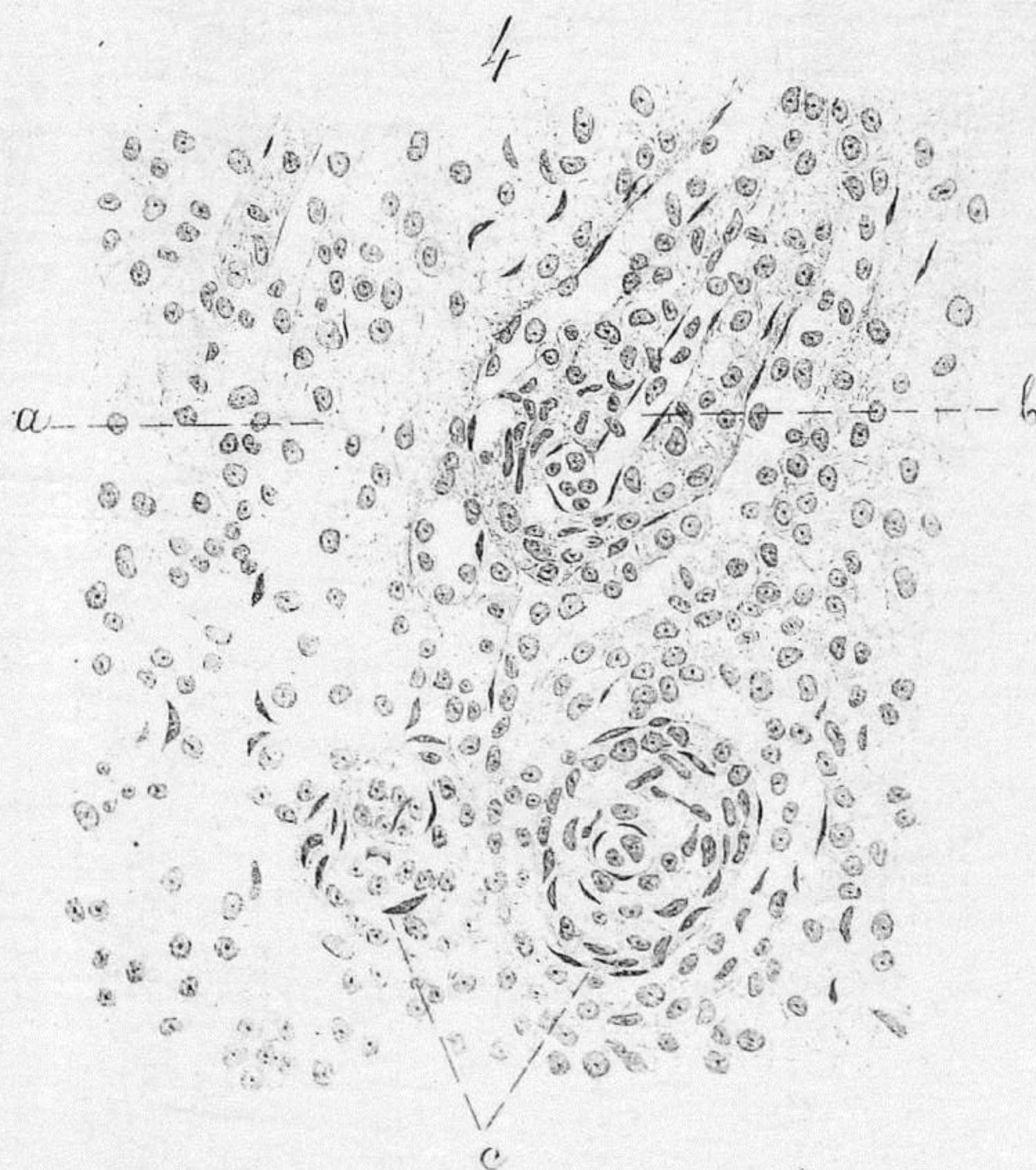
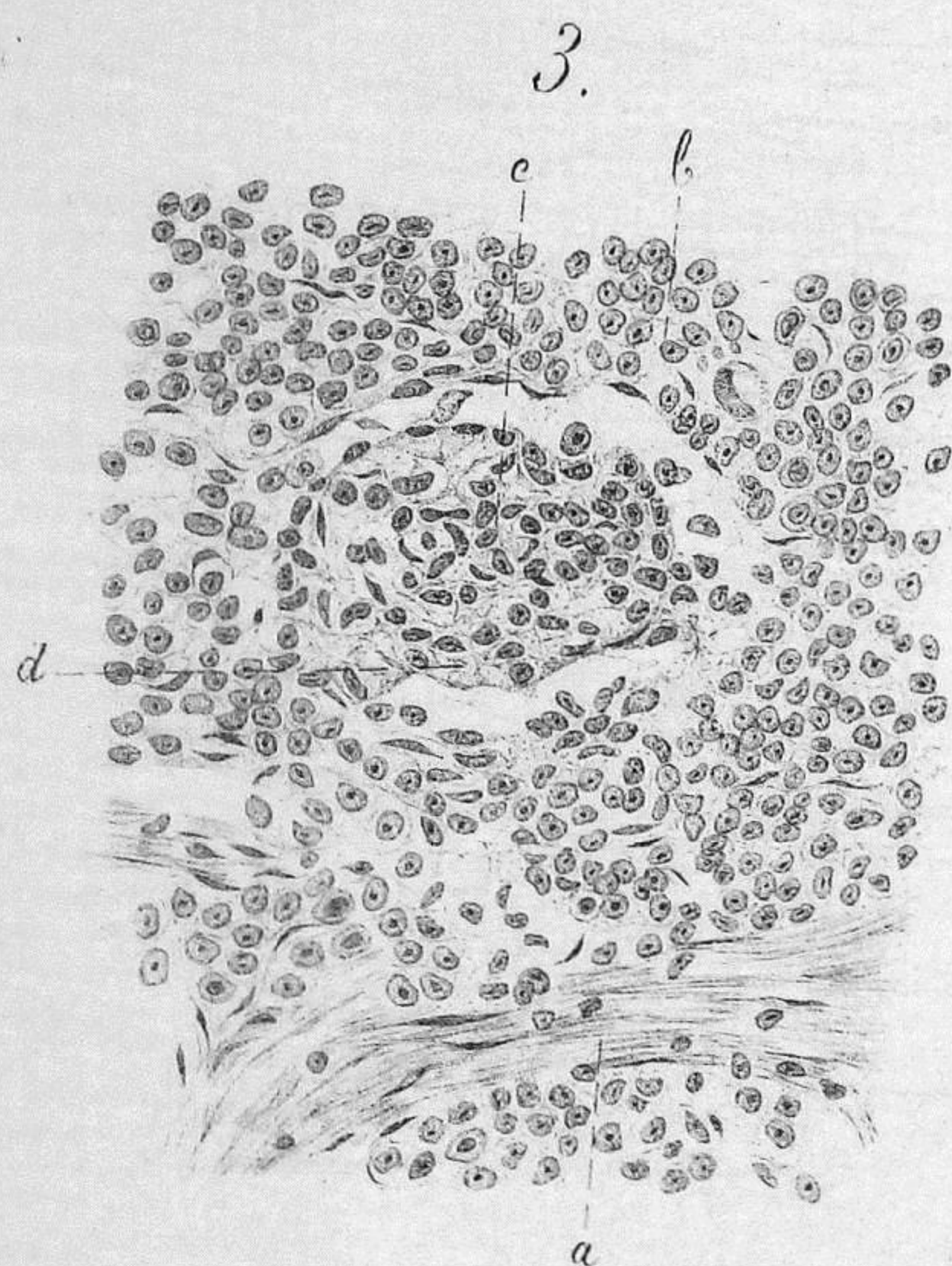
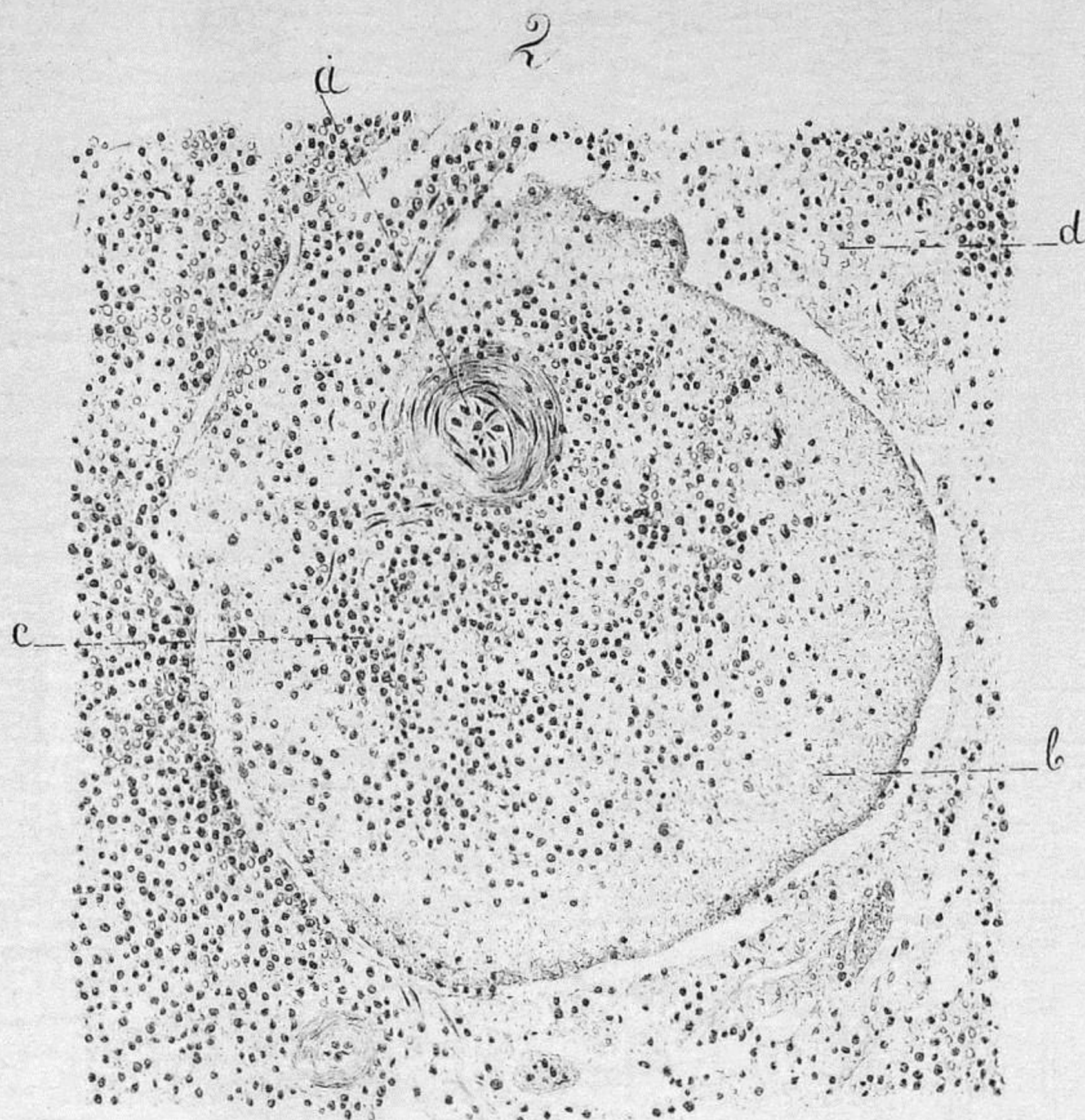
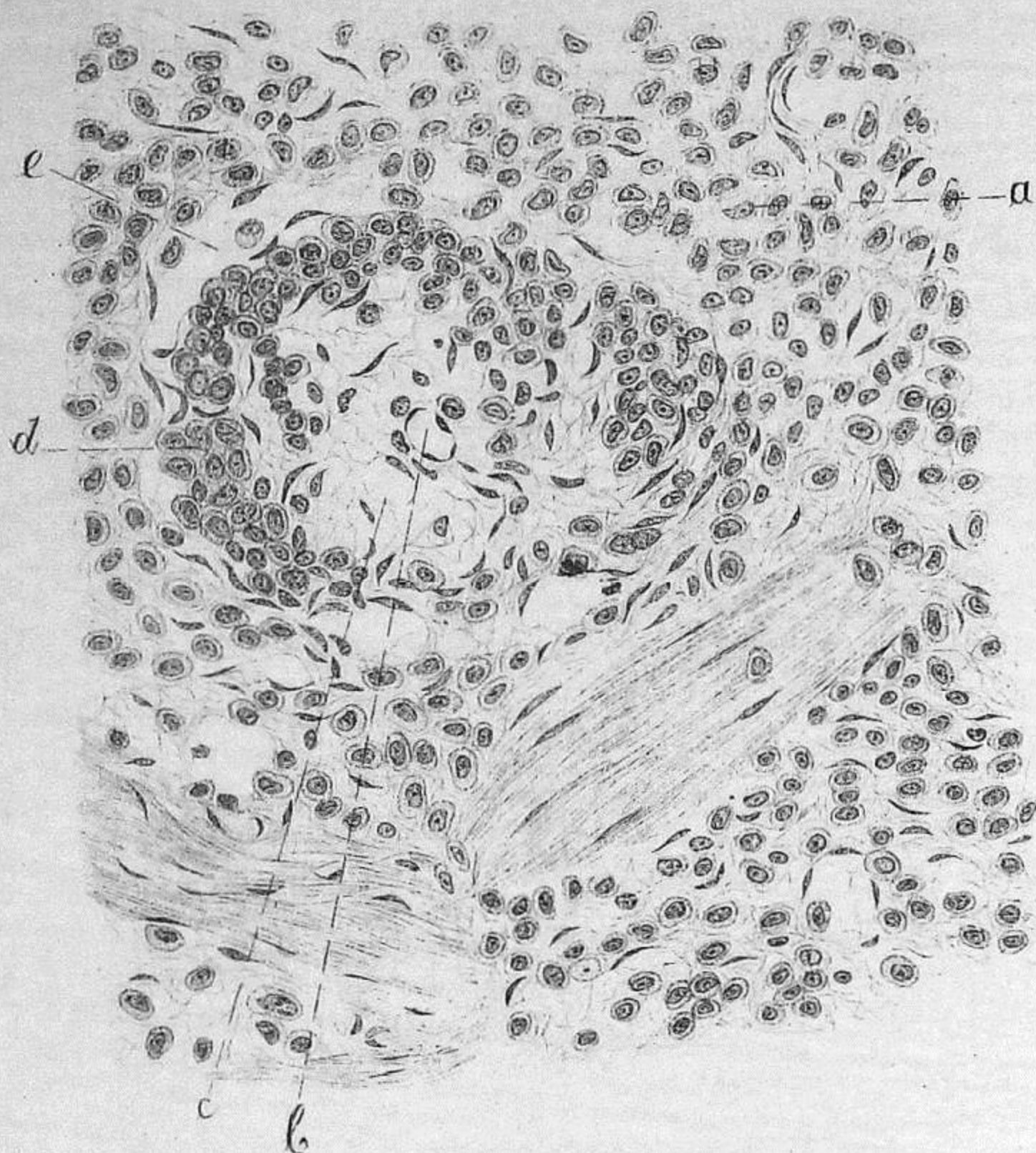
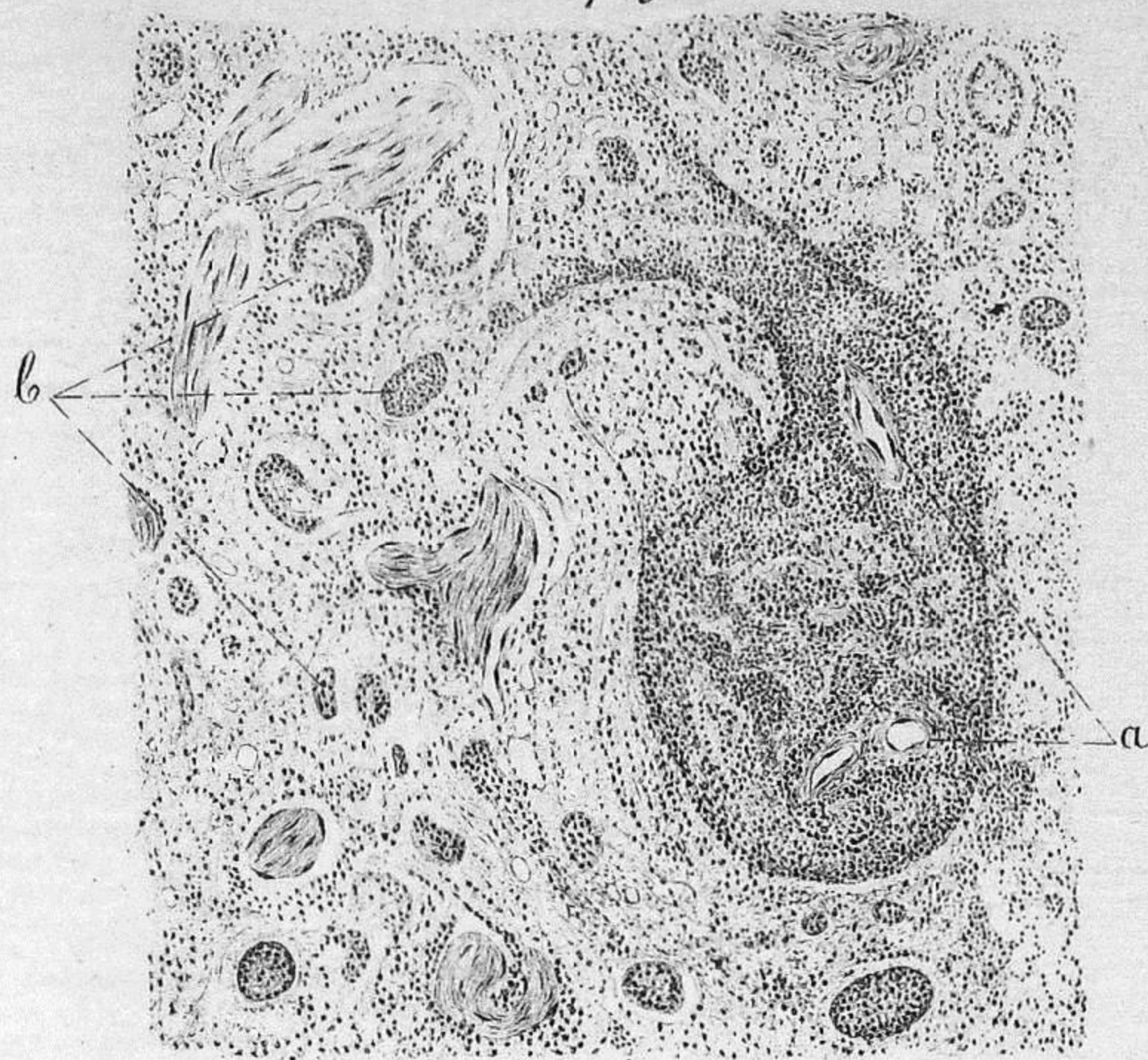
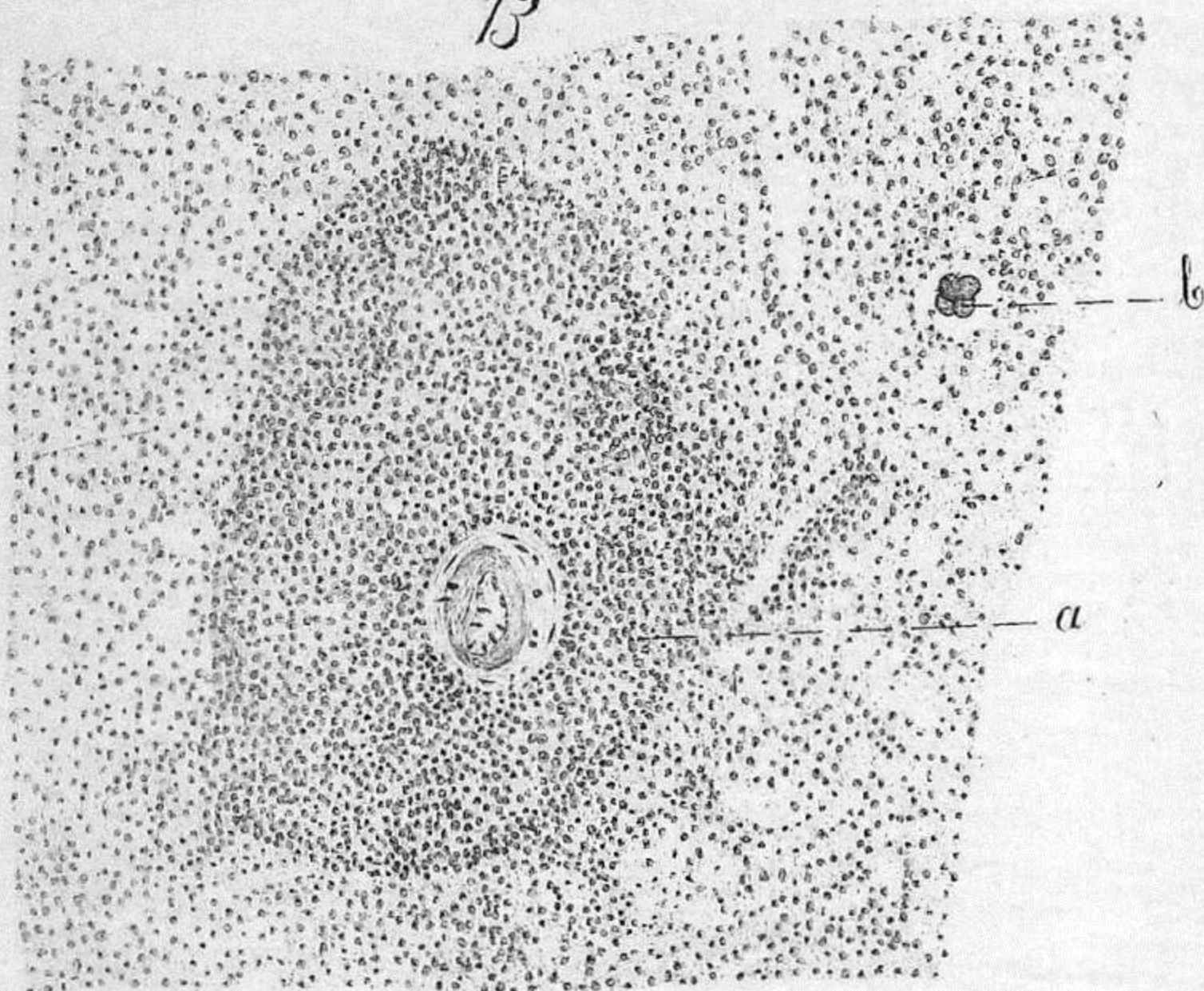
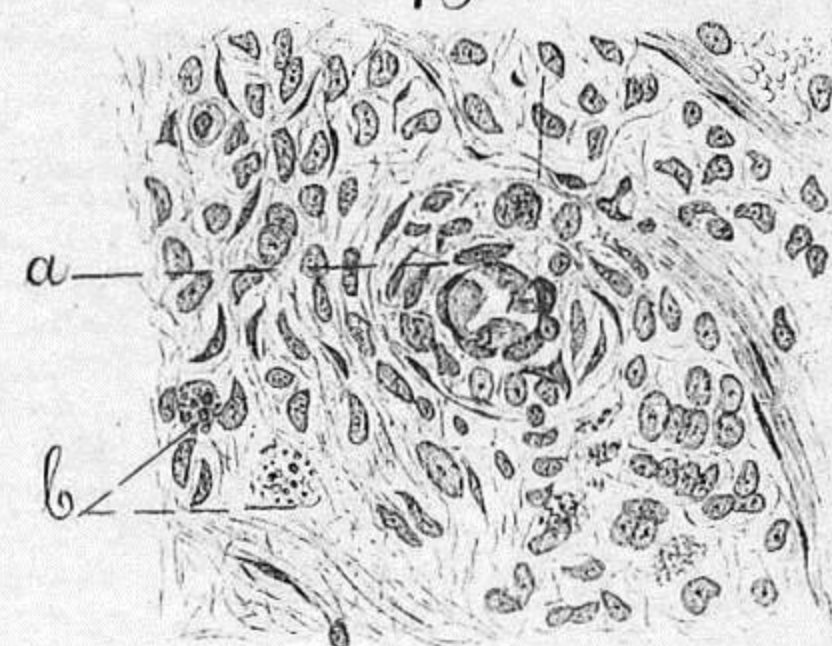
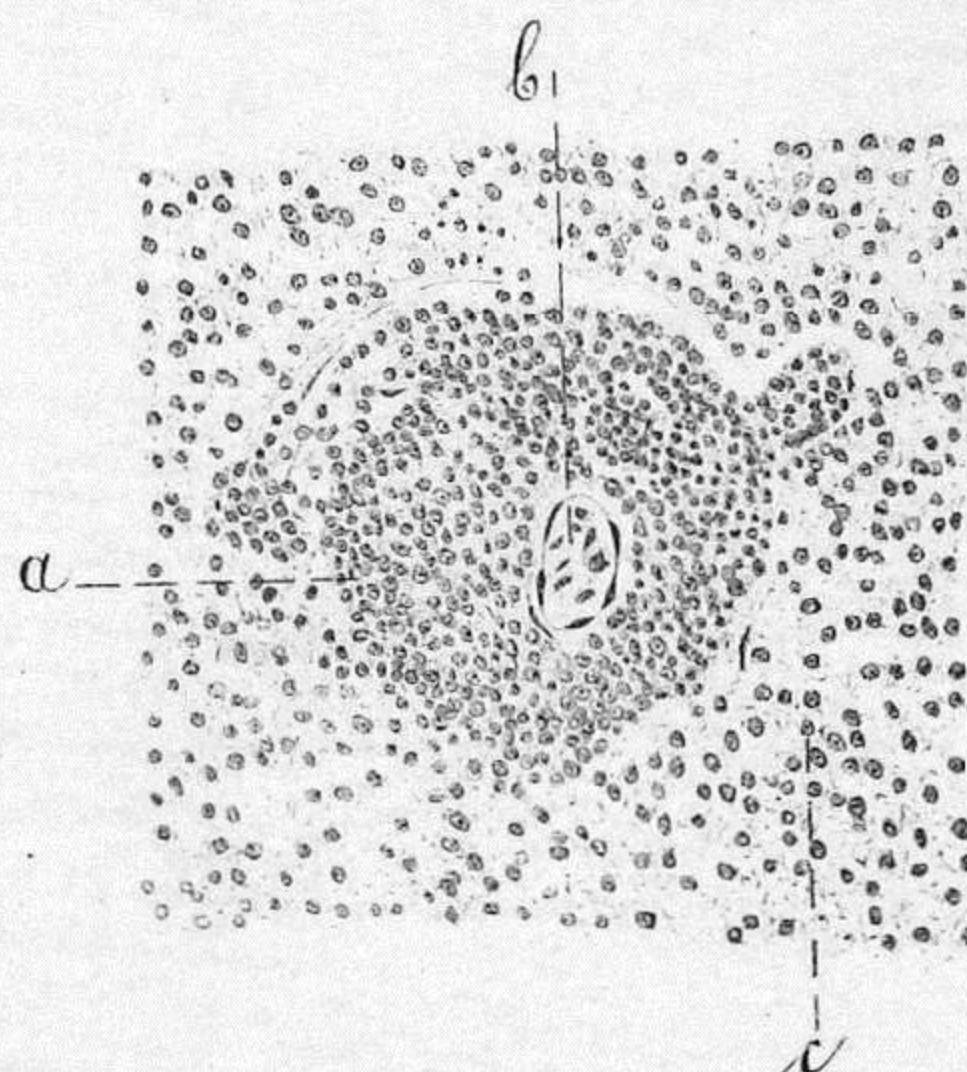
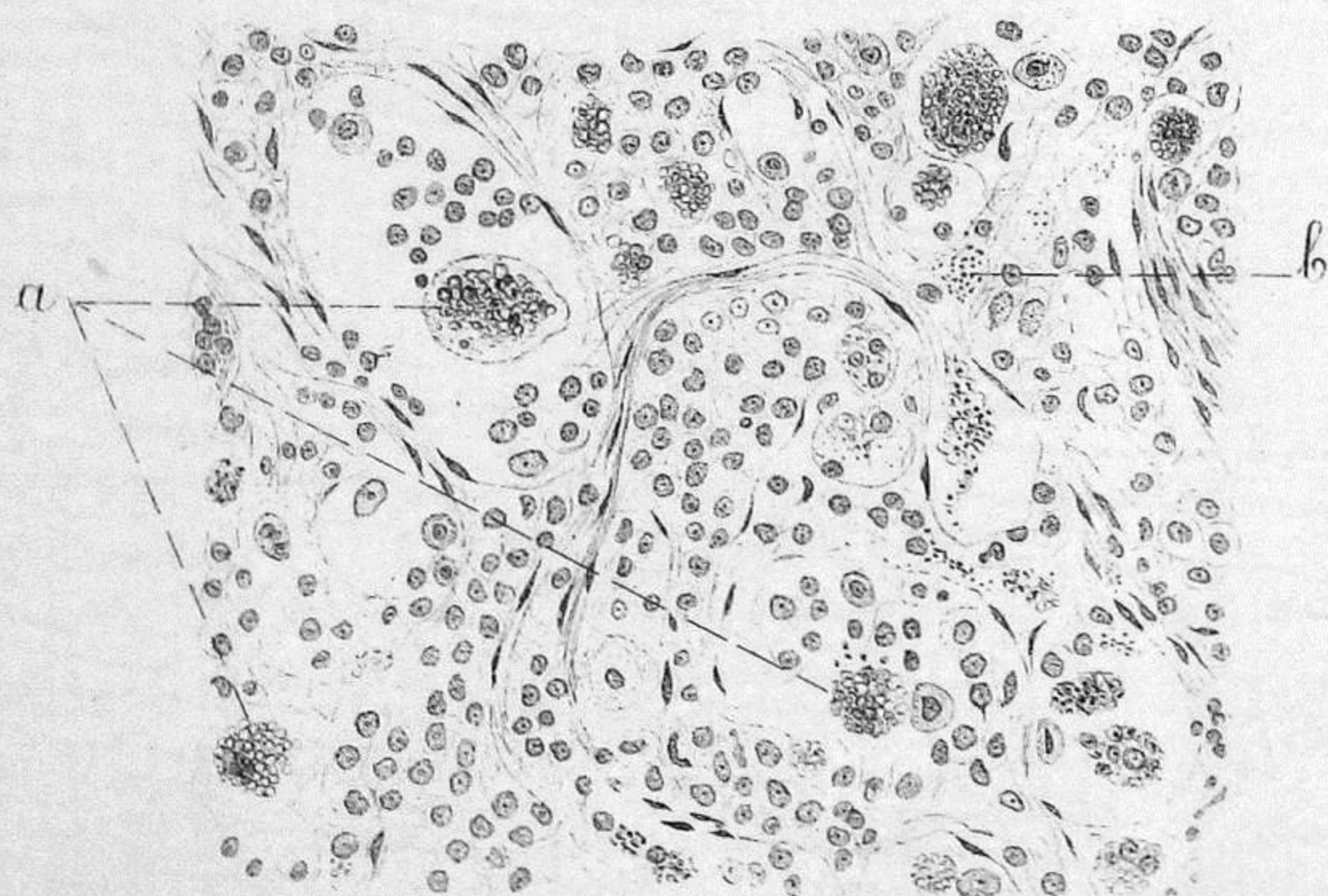
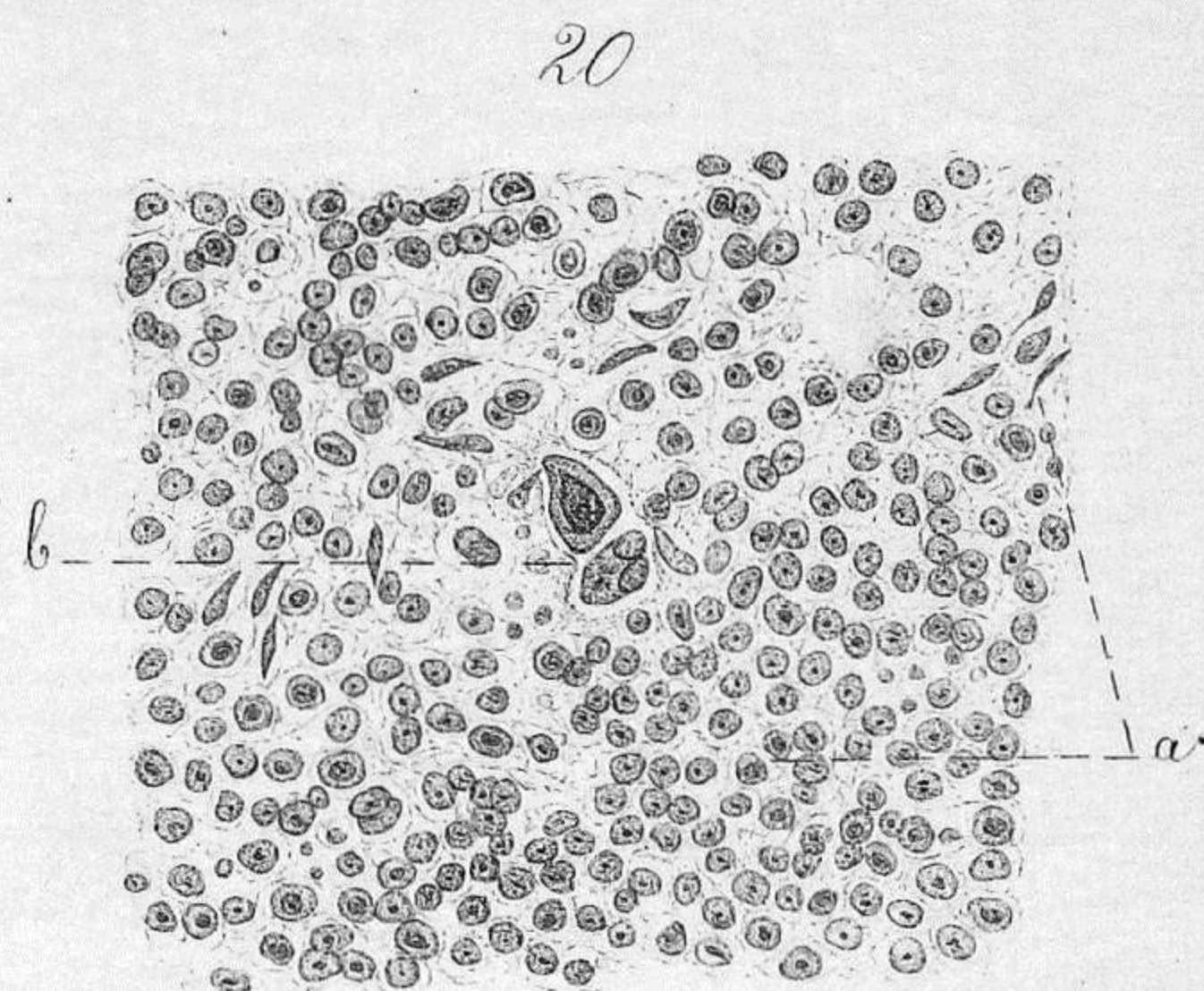
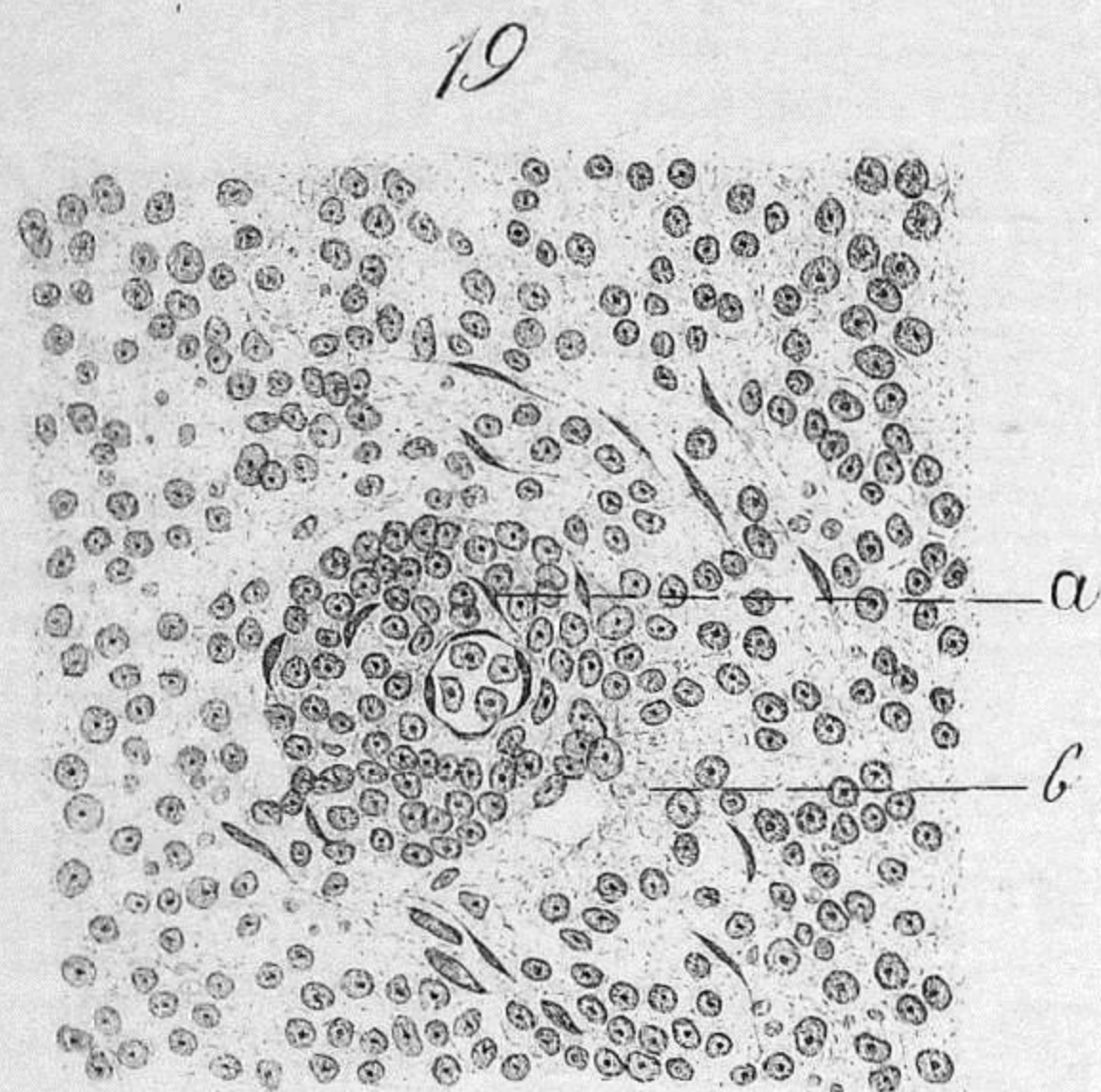
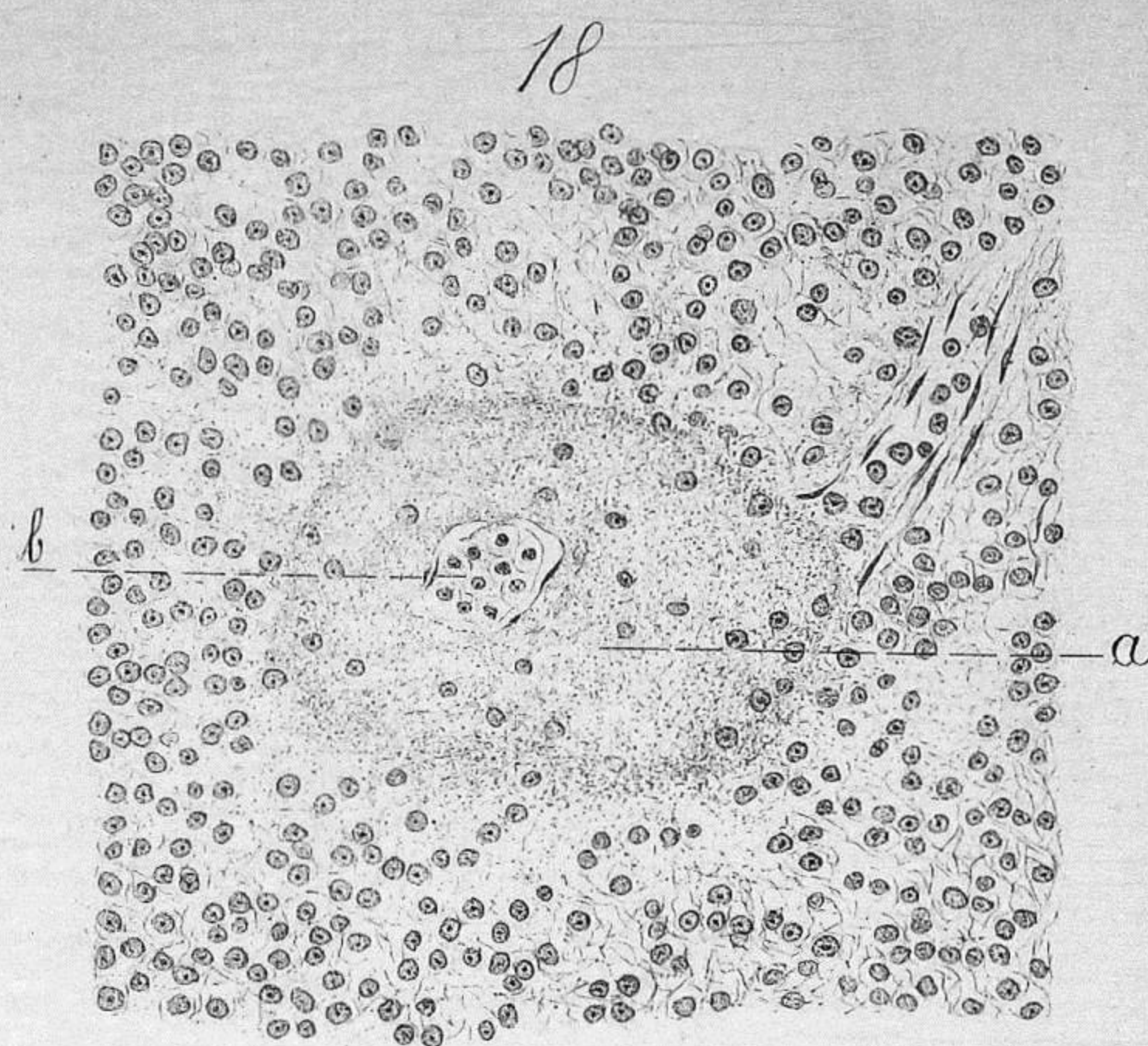
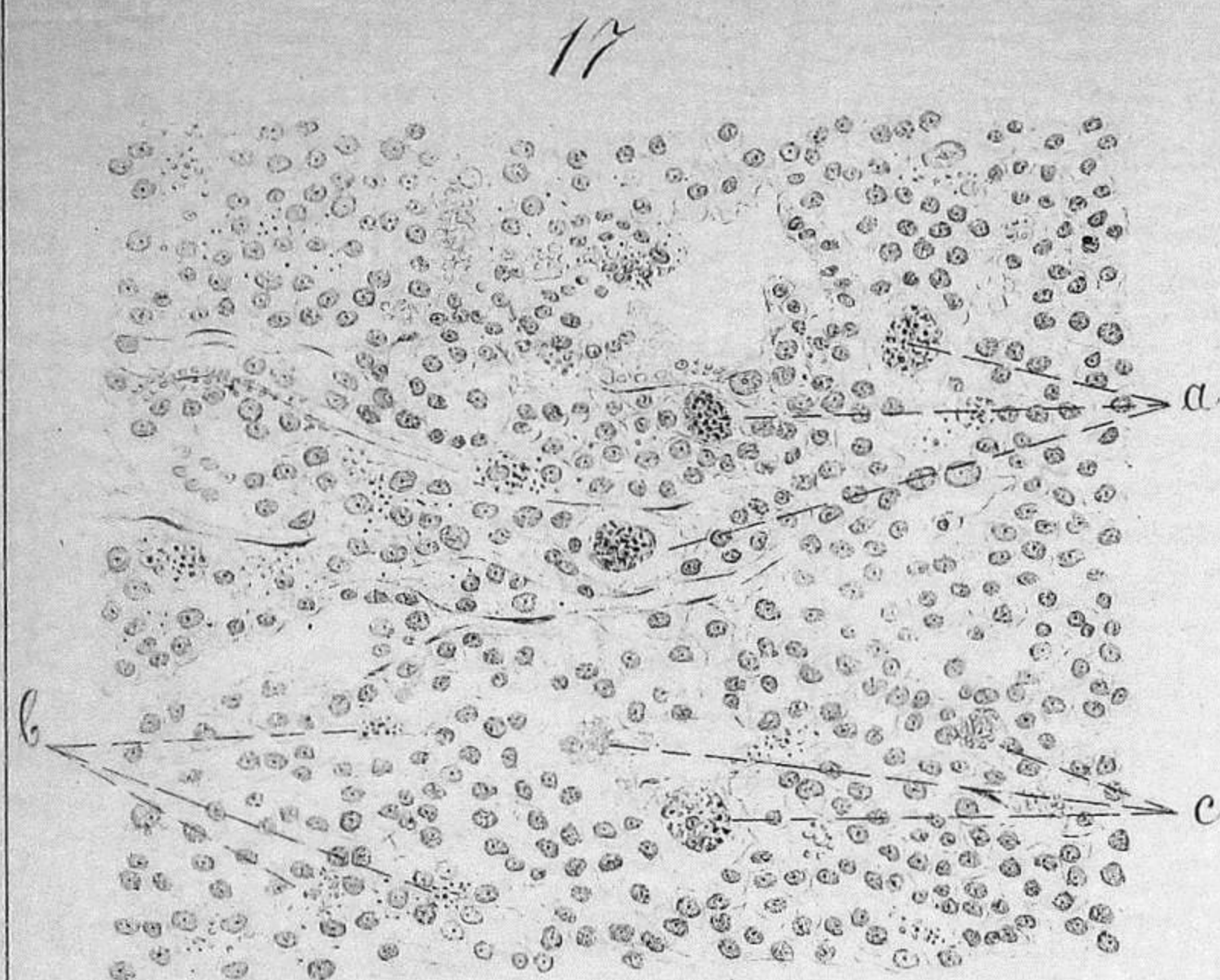
Fig. 12. Milza di cane ucciso dopo mesi 2 1/2 dall'innesto:
a) vecchi follicoli;
b) piccoli follicoli di neoformazione a piccolo ingrandimento. Zeiss, ob. A, oc. 2.
Fig. 13. Milza di cane ucciso dopo 4 mesi dall'innesto:
a) Nuovo follicolo, completamente formato, visto a piccolo ingrandimento;
b) cellula gigante nella polpa. Zeiss, ob. C, oc. 2.
Fig. 14. Milza di coniglio ucciso dopo 8 giorni dall'innesto:
a) zolle di pigmento ematico nella polpa, e corpuscoli rossi in via di distruzione;
b) piccole necrosi granulari, circoscritte nella polpa. Zeiss, ob. D, oc. 3.
Fig. 15. Milza di coniglio ucciso dopo 10 giorni dall'innesto:
a) inizio di un follicolo di nuova formazione, costituito quasi esclusivamente da cellule endoteliali fusate, in mezzo alle quali cominciano a depositarsi scarsi leucociti;
b) zone di degenerazione granulare nella polpa. Koristka, ob. 8, oc. 3.
Fig. 16. Milza di coniglio ucciso dopo 15 giorni dall'innesto:
a) follicolo di neoformazione in uno stadio di sviluppo più avanzato del precedente, con numerosi piccoli leucociti;
b) arteria centrale con cellule endoteliali nel suo lume;
c) polpa con reticolo in via di rigenerazione. Zeiss, ob. C, oc. 3.
Fig. 17. Milza di tifoso, morto tra la 2ª e la 3ª settimana di malattia (periodo ulcerativo):
a) zolle di pigmento sanguigno;
b) piccole zone necrotiche granulari nella polpa;
c) globuli rossi in via di distruzione. Zeiss, ob. D, oc. 3.
Fig. 18. Milza di tifoso morto nel periodo ulcerativo:
a) follicolo completamente necrosato;
b) arteria centrale del follicolo trombosata. Koristka, ob. 8, oc. 3.
Fig. 19. Milza di individuo guarito dall'infezione tifica, e morto per paralisi cardiaca:
a) piccolo follicolo di nuova formazione, infiltrato di leucociti, e con scarse cellule endoteliali di aspetto fusato;
b) reticolo non ancora rigenerato completamente. In alcuni punti conserva ancora l'aspetto granulare. Zeiss, ob. D, oc. 3.
Fig. 20. Milza di individuo guarito dall'infezione tifica, e morto per paralisi cardiaca:
a) polpa con grande quantità di piccoli leucociti, e scarse cellule endoteliali fusate;
b) cellule giganti nella polpa.
Fig. 21. Milza di individuo guarito dall'infezione tifica, e morto per paralisi cardiaca:
a) follicoli quasi completamente rigenerati.
b) inizio dei nuovi follicoli. Zeiss, ob. A, oc. 3.
Fig. 22. Embrione di pollo. Genesi della milza:
a) foglietto peritoneale;
b) cellule mesenchimali da cui trae origine il tessuto splenico;
c) vena sotto intestinale dalla quale si inizia la circolazione lacunare splenica;
d) muscolo dello stomaco;
e) cavità dello stomaco. Zeiss, ob. D, oc. 2.

BIBLIOGRAFIA.

1. Zambeccari. — *Esperimenti intorno le diverse viscere tagliate a diversi animali viventi.* Firenze 1680.
2. Philipeaux. — C. R. de l'Acad. des Sciences, séance 18 mars 1860.
3. Peyrani. — Ibid., séance du 25 novembre 1861.
4. Tizzoni e Fileti. — *Sulla funzione ematopoietica della milza.* Atti della R. Accad. dei Lincei. Serie III, Vol. X.
5. Tizzoni. — *Sulle milze accessorie, e sulla neoformazione della milza per processi patologici della milza primaria.* Atti della R. Accad. dei Lincei, III Serie, Vol. XIII.
6. Foà. — *Contribution à l'étude physiologique de la rate.* Lo sperimentale. Firenze, settembre 1883.
7. Eternod. — Revue médicale de la Suisse. 1888, N. 1, 15 janvier.
8. Foà. — *Contribution à l'étude de la physiopath. de la rate.* Lo sperimentale. Firenze, settembre 1883.
9. Griffini e Tizzoni. — *Studio sperimentale sulla riproduzione parziale della milza.* R. Accad. dei Lincei, 17 giugno 1883.
10. Krebsbach. — *Ueber die Regeneration der Milz.* Inaug. Dissertation. Bonn, 1889.
11. Ceresole. — *De la régénération de la rate chez le lapin.* Beiträge zur pathologischen Anatomie, ecc., von Ziegler. XVIII. Band, 3 Heft., 1895.
12. Maffucci. — *Sulla patologia del peritoneo.* Mov. medico chirurgico, Anno XV, fascicolo 4°, 1883.
13. Tedeschi. — *A proposito di un caso di milze soprannumerarie.* Comunicazione fatta alla Soc. dei medici di Cagliari, nella seduta del 2 giugno 1897.
14. Albrecht. — *Ein Fall von sehr zahlreichen über das ganze Peritoneum versprengten Nebenmilzen.* Beiträge zur path. Anat., ecc., von Ziegler. XX. Band, Heft 3, 1896.
15. Maffucci. — *Nota preventiva sulla rigenerazione del parenchima della milza nei morbi infettivi.* Il movimento medico chirurgico. Napoli, Anno XV, fasc. 6, 1883.
16. Birch-Hirschfeld. — Lehrb. der path. Anatomie. Bd. 2, S. 143.
17. Ziegler. — Lehrb. der path. Anatomie. 8, S. 33.
18. Sokoloff. — Wirchow's Archiv. Bd. 66, Heft 2.
19. Ehrlich. — Charité-Annalen, 1884.
20. Ponfick. — *Ueber Hämoglobinurie und ihre Folgen.* Verandl. d. Congr. f. inn. Med., p. 205.
21. Orth. — Lehrbuch der spec. path. Anat. 1, 599.
22. Rivalta. Il Policlinico. Anno 1894, pag. 316.
23. Maffucci. — *Sulla distruzione e rigenerazione del parenchima delle glandule linfatiche.* Il movimento medico chirurgico. Anno XV, fasc. 6, 1883.
24. Ribbert. — *Ueber Regeneration und Entzündung der Lymphdrüsen.* Beiträge zur pathologischen Anatomie, ecc., redigirt von Ziegler. VI. Bd., 3 Heft, 1889.
25. Köllicker. — Phis. med. Gesell., 1893.
26. Phisalix. — *Recherches sur l'anatomie et la phisiologie de la rate chez les ichthyohsides.* Paris, 1885.
27. Maurer. — *Die erste Anlage der Milz, und das erst Auftreten von lymphatischen Zellen bei Anphibill.* Morphologisches Jahrbuch, 16. Bd., 1 Hft, Juni 1890.
28. Laguesse. — *Recherches sur le développement de la rate chez les poissons.* Journal de l'Anatomie ed de Phisiologie, 1890.
29. Malassez e Picard. — Comptes rendus, 1874, f. 4, XXIX.
30. Bizzozero e Salvioli. — Moleschott's Unters., f. XII.
31. Tizzoni. — Archivio di scienze mediche. Vol. 5, 1882.
32. Laudembach. — *La fonction hémopoétique de la rate.* Archives de phisiologie fondées par Brown Sequard, 1896-97.
33. Michelazzi. — *Contributo allo studio della Fisiopatologia della milza.* Pisa, 1898.

Di Ciolo dis. ed inc.

Lit. P. Casetti e C.i Via Lata. Roma.

11
e
a
d
c
b
12
b
a
13
b
a
15
a
b
16
b
a
c
14
a
b

17
a
b
c
18
b
a
19
a
b
20
b
a
21
Milza di individuo tifoso
a-vecchio follicolo a piccolo ingrandimento
b-follicoli di neoformazione
a
b
22
c
a
b
e
d